



**Untersuchung zur mikrobiologischen Wirksamkeit von  
Moxifloxacin bei schweren Formen chronischer Parodontitis**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae dentariae  
(Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Kerstin Wegner  
geboren am 30. April 1978 in Hildesheim

Erster Gutachter: \_\_\_\_\_

Zweiter Gutachter: \_\_\_\_\_

Dritter Gutachter: \_\_\_\_\_

Tag der öffentlichen Verteidigung: \_\_\_\_\_

## Abkürzungsverzeichnis

<i>A.a./ A. actinomycetemcomitans</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
API	Approximalraum-Plaquesindex
ATCC	American Tissue Culture Collection
BANA-Test	N-Benzoyl-DL-Arginin-b-Naphtylamid-Test
BOP	"Bleeding On Probing"-Index
bp	Basenpaar(e)
C	Komplement ("complement")
CD	"cluster of differentiation"
CD4	CD4-Zellen
<i>C. rectus</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
D	Dalton
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleinsäure-5'-triphosphat
dest.	destilliert
<i>E. corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
HIV	Humanes Immun-Schwäche-Virus ("Human Immunodeficiency Virus")
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
MHK	minimale Hemmkonzentration
MMP	Matrix-Metall-Proteinase
neg.	negativ
OD	optische Dichte
P(1-4)	Probe zum Entnahmezeitpunkt 1-4
PCR	Polymerasekettenreaktion ("polymerase chain reaction")
<i>P.g./ P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
PI	Plaques-Index
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>

rDNA	ribosomale Desoxyribonukleinsäure
QT	QT-Intervall
S	Svedberg
t(1-4)	Entnahmezeitpunkt 1-4
T <sub>A</sub>	Annealingtemperatur
<i>T.d./ T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>T.f./ T. forsythia</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
T <sub>m</sub>	Schmelztemperatur
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
z	Anzahl der Basen
ZNS	zentrales Nervensystem

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>3</b>
2.1 Definition und Klassifikation der Parodontitiden	4
2.2 Ursachen für die Entstehung von Parodontalerkrankungen	6
2.3 Ziel einer Parodontitistherapie	10
2.4 Antibiotika in der Parodontitistherapie	12
2.5 Mikrobiologische Diagnostik	19
<b>3 Zielsetzungen der Arbeit</b>	<b>22</b>
<b>4 Material und Methoden</b>	<b>23</b>
4.1 Studienaufbau	23
4.1.1 Auswahl der Probanden	24
4.1.2 Klinischer Behandlungsablauf	25
4.2 Mikrobiologische Probenentnahme	27
4.3 DNA-Isolierung	28
4.4 Quantitative Einzelbestimmung der Bakterienspezies <i>P. gingivalis</i> , <i>T. forsythia</i> und <i>T. denticola</i> mittels Real-Time PCR	29
4.5 Optimierung der Real-Time PCR zum Nachweis von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	35
4.6 Statistische Auswertung	38
<b>5 Ergebnisse</b>	<b>39</b>
5.1 Patienten und Plaqueproben	39
5.2 Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime bei chronischer Parodontitis vor Parodontalbehandlung	40
5.3 Wirkung der Behandlung auf die vier parodontopathogenen Bakterien	41
5.3.1 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing mit Moxifloxacin	41
5.3.2 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing mit Doxycyclin	45
5.3.3 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing	49
5.4 Vergleich der Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime bei Nichtrauchern und Rauchern	53

<b>6 Diskussion</b>	<b>57</b>
6.1 Material	57
6.2 Real-Time PCR	57
6.3 Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime vor Parodontalbehandlung	60
6.4 Wirksamkeit der adjuvanten Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin gegenüber den vier parodontopathogenen Keimen	61
6.5 Wirksamkeit der adjuvanten Antibiotikatherapie mit Doxycyclin gegenüber den vier parodontopathogenen Keimen	63
6.6 Wirksamkeit der alleinigen instrumentellen Therapie	65
6.7 Vergleich der Parodontalbehandlung zwischen Nichtrauchern und Rauchern	66
6.8 Schlussfolgerung für die antibiotische Therapie	67
<b>7 Literaturverzeichnis</b>	<b>69</b>
<b>8 Anhang</b>	<b>88</b>
A Danksagung	95
B Lebenslauf	96
C Ehrenwörtliche Erklärung	97

## 1 Zusammenfassung

Zahlreiche Studien haben den therapeutischen Nutzen der systemischen Antibiotikatherapie bei schwerer Parodontitis gezeigt. Bisher existieren allerdings keine Studien, die die mikrobiologische Wirksamkeit des neuen antibiotischen Wirkstoffs Moxifloxacin bei schwerer chronischer Parodontitis untersucht haben. Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Wirksamkeit von Moxifloxacin nach instrumenteller Behandlung im Vergleich zu zwei bereits etablierten Therapieansätzen (Doxycyclin nach instrumenteller Therapie oder alleiniger instrumenteller Therapie) in Abhängigkeit des jeweils vorliegenden Erregerspektrums zu untersuchen.

Es sollte die Verteilung der vier spezifischen Leitkeime (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) vor Behandlung ermittelt werden. Vor Therapie waren bei Patienten mit chronischer Parodontitis höhere Keimzahlen und Prävalenzen der Erreger *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* nachweisbar verglichen mit dem Erreger *A. actinomycetemcomitans*. Der Vergleich der drei häufigsten Keime untereinander (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) zeigte, dass *P. gingivalis* häufiger und in höheren Keimzahlen pro Probe vorlag als *T. forsythia* und *T. denticola*. Diese Verteilung ähnelt den Ergebnissen anderer Studien.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Hypothese überprüft werden, ob die adjuvante Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin nach instrumenteller Therapie den zwei etablierten Behandlungsansätzen (Therapie mit Doxycyclin nach instrumenteller Therapie oder alleinige instrumentelle Behandlung) überlegen ist. Die adjuvante Therapie mit Moxifloxacin oder Doxycyclin führte insgesamt zu einer erfolgreicherer Abnahme der vier Leitkeime als die alleinige instrumentelle Therapie. Nach alleiniger instrumenteller Therapie war nur eine Reduktion von *T. denticola* nach drei Monaten im Vergleich zur Basisuntersuchung nachweisbar. Auf die übrigen drei Keime zeigte diese Behandlung aber keinen direkten signifikanten Effekt. Im Vergleich zu Doxycyclin war Moxifloxacin antimikrobiell wirksamer und führte zu einer ausgeprägteren und langfristigeren Reduktion von *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola*. Die Erreger *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* wurden unter Moxifloxacin signifikant und langfristiger verringert als unter Doxycyclin. Doxycyclin bewirkte nur eine signifikante, initiale Abnahme von *T. denticola*.



Die instrumentelle Behandlung in Verbindung mit Doxycyclintherapie hatte keinen reduzierenden Effekt auf *A. actinomycetemcomitans*. Beide Antibiotika waren gut wirksam gegenüber den Erregern *P. gingivalis* und *T. forsythia*. Die bessere Wirksamkeit von Moxifloxacin im Vergleich zu Doxycyclin könnte auf eine günstigere Pharmakokinetik und ein selteneres Vorliegen von Resistenzen gegenüber Moxifloxacin bei *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* zurückzuführen sein.

Abschließend sollte die Fragestellung untersucht werden, ob sich Rauchen - ein Risikofaktor für die schwere Parodontitis - negativ auf den Behandlungserfolg auswirkt. Im Verlauf der Behandlung war unabhängig von den drei Behandlungsgruppen bei Nichtrauchern im Vergleich zu Rauchern eine stärkere signifikante Verringerung von *P. gingivalis* und *T. denticola* zu verzeichnen. Jedoch waren keine signifikanten Unterschiede in der Keimzahl von *A. actinomycetemcomitans* und *T. forsythia* zwischen Nichtrauchern und Rauchern nachweisbar. Die Gesamtverteilung von *A. actinomycetemcomitans* zeigte zwar keine signifikanten Unterschiede zwischen Nichtrauchern und Rauchern, aber Raucher wiesen zu allen Zeitpunkten die Tendenz zu höheren Keimzahlen von *A. actinomycetemcomitans* auf. Der negative Effekt des Rauchens auf den Therapieerfolg kann durch die Wirkung des Rauchens auf die Immunantwort und die Entzündungsreaktion des Wirts bedingt sein.

Zusammenfassend zeigte diese Arbeit, dass Moxifloxacin bei schwerer chronischer Parodontitis wirksamer gegenüber den vier untersuchten Leitkeimen ist als die Therapie mit Doxycyclin nach instrumenteller Therapie oder die alleinige instrumentelle Behandlung. Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass Moxifloxacin künftig eine wichtige Rolle bei der Therapie der schweren chronischen Parodontitis spielen könnte.

## 2 Einleitung

Parodontalerkrankungen gehören zu den häufigsten Erkrankungen in der Bevölkerung. Die chronische Parodontitis macht etwa 95% aller Parodontitiden aus. 10-15% davon sind den schweren Formen der Parodontitiden zuzuordnen.

Die Basis der Parodontalbehandlung stellt das Deep Scaling und Root Planing dar. Diese Behandlung ist notwendig, um den subgingivalen Biofilm zu zerstören und die bakteriellen Konkreme zu entfernen. Antibiotika sind in der Parodontitistherapie als Unterstützung des instrumentellen Vorgehens von zusätzlichem Nutzen. Bewährte Antibiotika sind dabei Metronidazol und Tetracycline.

Zurzeit gibt es kaum Daten zur mikrobiologischen Wirksamkeit einer adjuvanten Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin nach instrumenteller Parodontalbehandlung bei Patienten mit chronischer Parodontitis. Die vorliegende Arbeit untersucht daher die mikrobiologische Wirksamkeit von Moxifloxacin im Vergleich zu instrumenteller Parodontalbehandlung mit adjuvanter Doxycyclintherapie und reiner instrumenteller Parodontalbehandlung.

## **2.1 Definition und Klassifikation der Parodontitiden**

Bei der Parodontitis handelt es sich um eine multifaktorielle Erkrankung, die im Zahnfleisch, desmodontalen Faserapparat und alveolären Knochen lokalisiert ist. Bakterien spielen eine bedeutende Rolle (Mombelli 2003). Durch immunpathogenetische Mechanismen sind Erreger am entzündlichen Abbau des Parodontiums beteiligt. Im Verlauf der Erkrankung kann es zur Bildung von parodontalen Taschen, zur Entzündung der Gingiva, zum Attachmentverlust, zum Abbau des Alveolarknochens bis hin zum Zahnverlust kommen (Bascones-Martínez und Figuero-Ruiz 2004). Die Parodontitis kann in verschiedene Krankheitsformen unterteilt werden. Die Einteilung erfolgt anhand der klinischen Symptome, des Schweregrades, der Lokalisation, der Progressions- bzw. Stagnations- und Remissionsrate, des Attachmentverlustes sowie der Alterstufe der Manifestation (Flemmig 1999).

Seit 1999 ist eine neue Klassifikation der Parodontitis gültig. Sie unterscheidet die folgenden Formen (Armitage 1999):

1. Gingivale Erkrankung
2. Chronische Parodontitis
3. Aggressive Parodontitis
4. Parodontitis als Manifestation einer systemischen Erkrankung
5. Nekrotisierende Parodontitis
6. Parodontalabszesse
7. Parodontitis im Zusammenhang mit endodontalen Läsionen
8. Entwicklungsbedingte oder erworbene Deformationen und Zustände

Zwei besonders häufig vorkommende Formen dieser Klassifikation sind die aggressive und die chronische Parodontitis, die im folgenden Abschnitt erläutert werden.

### *Aggressive Parodontitis*

Bei der aggressiven Parodontitis handelt es sich um eine infektiöse, entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates mit raschem Verlauf und Verlust des Alveolarknochens. Geringe Mengen an festhaftenden Belägen, wie z.B. Konkremente, und ein rascher Attachmentverlust sind die Symptome der aggressiven Parodontitis (Picolos et al. 2005). Ausmaß und Schwere des Attachmentverlustes stehen häufig im Missverhältnis zur Akkumulation der Plaque. Typisch für diese Parodontitisform ist das Vorkommen von *A. actinomycetemcomitans*. Die genetische Prädisposition beeinflusst die Entstehung und den Verlauf der aggressiven Parodontitis. Nach dem Ausbreitungsgrad lassen sich eine lokalisierte Form, bei der weniger als 30%, und eine generalisierte Form, bei der mehr als 30% des Parodontiums betroffen sind, unterscheiden (Gängler et al. 2005).

### *Chronische Parodontitis*

Das Vorkommen, die Ausdehnung und der Schweregrad der chronischen Parodontitis steigen kontinuierlich mit höherem Alter an. Ein genaues Alter, in dem die Krankheit am wahrscheinlichsten eintritt, lässt sich allerdings nicht festlegen (Flemmig 1999). Bei der chronischen Parodontitis werden zwei Verlaufsformen unterschieden: ein kontinuierlicher oder ein schubförmiger Verlauf (Bascones-Martínez und Figuero-Ruiz 2004). Im Unterschied zur aggressiven Parodontitis korreliert bei der chronischen Parodontitis das Ausmaß der parodontalen Destruktion mit dem Auftreten der klinischen Symptome. Bei Fortschreiten der Erkrankung kann es zu Gingivahypertrophie, Rezessionen, Blutung nach Sondierung, erhöhter Zahnbeweglichkeit, Zahnwanderungen und Abszessen kommen. Letzten Endes kann die chronische Parodontitis zum Zahnverlust führen. Je nach Ausdehnung und Schweregrad kann eine weitere Einteilung der chronischen Parodontitis vorgenommen werden. So wird eine Zuordnung in lokalisierte und generalisierte chronische Parodontitis vorgenommen. In Abhängigkeit vom Schweregrad kann eine Einteilung in eine leichte chronische Parodontitis mit 1-2 mm Attachmentverlust, eine mäßige chronische Parodontitis mit 3-4 mm Attachmentverlust und eine schwere chronische Parodontitis mit  $\geq 5$  mm Attachmentverlust festgelegt werden (Gängler et al. 2005).

## 2.2 Ursachen für die Entstehung von Parodontalerkrankungen

An der Pathogenese der Parodontitiden sind komplexe Interaktionen zwischen multiplen Genen, Immunabwehr und vielfältigen exogenen Umwelt- und Verhaltensfaktoren kausal und modifizierend beteiligt (Page und Kornmann 1997). Eine besondere Rolle spielen dabei auch spezifische Bakterien. Die Parodontitis ist als opportunistische Infektion zu verstehen, die meist bei geschwächter oder veränderter Immunlage des Wirts auftritt (Genco et al. 1992).

Die Bakterien, die mit der Pathogenese der Parodontitis assoziiert sind, zählen hauptsächlich zu den gramnegativen anaeroben Stämmen. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* und *Campylobacter rectus* können bei Parodontitispatienten häufiger nachgewiesen werden (Riviere et al. 1996, Zambon 1996, Takeuchi et al. 2001, Lovegrove 2004). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* gehört zu den mikroaerophilen Keimen. Dieser Keim ist auch an der Ätiologie der Parodontalerkrankungen beteiligt (Socransky und Haffajee 1992, Wolff et al. 1993, Ali et al. 1996, Van Winkelhoff et al. 2002). Socransky et al. (1998) ordneten *T. forsythia*, *P. gingivalis* und *T. denticola* in die Gruppe des "roten Komplexes" ein. Patienten mit Taschen, bei denen diese Leitkeime vorliegen, haben ein höheres Risiko einen weiteren Attachmentverlust zu erleiden (Fine 1994, Rams et al. 1996). In aktiven Phasen der Parodontitis sind *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* und *P. intermedia* vermehrt subgingival nachweisbar (Slots et al. 1986, Sela 2001). Parodontopathogene Keime weisen charakteristische Pathogenitätsmechanismen auf, mit denen sie die körpereigene Wirtsabwehr erfolgreich überwinden können. Hierbei kann der Wirt direkt oder indirekt durch Beeinflussung seiner Schutz- und Abwehrmechanismen geschädigt werden. Unterschiedliche Keimgruppen organisieren sich auf der Zahnoberfläche im Biofilm, in dem die Mikroorganismen in einer extrazellulären Matrix aus Polymeren und Speichelglykoproteinen eingebettet sind (Marsh 2003). Hierdurch kann die Pathogenität der Bakterien durch das Zusammenwirken verschiedener Erreger deutlich gesteigert werden (pathogener Synergismus) (Marsh und Bowden 2000, Marsh 2004).

Bei *A. actinomycetemcomitans* handelt es sich um einen gramnegativen Keim, der zu den nicht beweglichen Stäbchen zählt. Der Familie der Pasteurellaceae zugehörig, ist *A. actinomycetemcomitans* ein kapnophil fakultativer Anaerobier. *A. actinomycetemcomitans* liegt vorzugsweise in tiefen und blutenden Taschen vor (Mombelli et al. 1994). Dieser Keim ist an der Pathogenese der aggressiven Parodontitis beteiligt (Haraszthy et al. 2000, Beikler et al. 2004). Dieses Bakterium kann auch mit anderen endogenen Infektionen, wie z.B. Endokarditiden, Perikarditiden, Pneumonien, Septikämien und Abszessen assoziiert sein (Kaplan et al. 2003). Es existieren sechs verschiedene Serotypen, die in unterschiedlicher Häufigkeit vorkommen (Henderson et al. 2002). So ist das Vorkommen des Serotyps b (ATCC 43728) in Patienten mit aggressiver und chronischer Parodontitis signifikant höher als bei gesunden Patienten (Yang et al. 2005). *A. actinomycetemcomitans* verfügt über Haftpili und Fimbrien zur Adhäsion an das Gingivaepithel und an andere Bakterien (Kaplan et al. 2003). Gewebsinvasine können sezerniert werden, und *A. actinomycetemcomitans* kann in nicht professionelle Phagozyten penetrieren. Der Keim produziert Säuren, alkalische Phosphatase und Katalase. Verschiedene Virulenzfaktoren wie z.B. Leukotoxin, Chemotaxis-Inhibitionsfaktoren und Lymphozytensuppressoren können die Wirtsabwehr modulieren. Leukotoxin, ein 116-kDa Protein, wirkt schädigend auf T-Zellen, natürliche Killerzellen und polymorphkernige neutrophile Granulozyten, indem das Toxin die Entstehung von Membranporen verursacht (Lear et al. 2000, Mitchell et al. 2003). Dies führt zur Freisetzung von Enzymen und reaktiven Molekülen zur Gewebszerstörung (Lally et al. 1999). Zellwandkomponenten des Keims wie Lipopolysaccharide (Endotoxine) und Lipoteichonsäuren regen die Monozyten zur Produktion und zur Sekretion von Zytokinen (Interleukinen), Hormonen (Prostaglandinen) und von hydrolytischen Enzymen an. Zytotoxine, die von *A. actinomycetemcomitans* abgesondert werden, hemmen auch die Proliferation von Fibroblasten und induzieren Fibroblasten und Makrophagen zur Sekretion von Metalloproteinasen (Birkedal-Hansen 1993, Chang et al. 2002). Dies führt zum Grundsubstanzabbau bis hin zur Knochenresorption (Zambon 1985).

Ein Hauptvertreter der Gruppe der schwarz-pigmentierten anaeroben Stämme stellt *P. gingivalis* dar (Van Winkelhoff et al. 1989, Haffajee und Socransky 1994). *P. gingivalis* ist ein stäbchenförmiges, obligat anaerobes, gramnegatives Bakterium, das zur Familie der Bacteroidaceae gehört. Dieser nicht sporenbildende Keim wird mit schweren Formen und aktiven Phasen der Parodontitis in Verbindung gebracht. Verschiedene Autoren bezeichnen diesen parodontopathogenen Keim als einen wichtigen Faktor bei der Ätiologie der

chronischen Parodontitis (Nguyen et al. 2004, Bodet et al. 2005). Adhäsine, Fimbrien und Hämagglutinin spielen eine wichtige Rolle bei der Anhaftung an die parodontalen Epithelzellen (Dierickx et al. 2003). Erst später besiedelt *P. gingivalis* die dentale Plaque und lagert sich an bereits etablierte Mikroorganismen an (Kolenbrander et al. 1993). Mit Hilfe von Gewebsinvasinen treten diese Erreger ins Gewebe ein. Spezielle Proteinase, zytotoxische Substanzen, Kollagenase und Heparinase führen zu einem Substanzabbau (Sundqvist 1993). Lipopolysaccharide stimulieren in zirkulierenden Monozyten die Bildung und Ausschüttung von Entzündungsmediatoren (Moore et al. 1991, Chaves et al. 2000, Van Winkelhoff et al. 2002). Über die Induktion von Metalloproteinase kann es zu Gewebeschäden oder zu überschießenden autodestruktiven Entzündungsreaktionen kommen. Die Gingipaine sind Cystein-Proteinase und stellen wesentliche Virulenzfaktoren dar (Lamont und Jenkinson 1998, Nguyen et al. 2004). Sie stehen im Zusammenhang mit dem Abbau von Immunglobulinen (IgA, IgG1), der Spaltung von Komplementfaktoren (C3, C5) (Potempa et al. 2000) sowie der Ausbildung von Fimbrien (Tokuda et al. 1998). Verschiedene Stämme von *P. gingivalis* unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Adhärenz, Invasivität und Induktion der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine (Dorn et al. 2000, Eick et al. 2002b, Walter et al. 2004). Eine Studie von Bodet et al. (2005) zeigt, dass *P. gingivalis* die Sekretion von Entzündungsmediatoren (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) aus Makrophagen und Epithelzellen modulieren kann. Diese Zytokine begünstigen das Voranschreiten der Parodontitis. Darüber hinaus induziert *P. gingivalis* die Expression zellulärer Rezeptoren sogenannter Adhäsionsmoleküle an der Oberfläche von Endo- und Epithelzellen. Somit spielt der Keim möglicherweise eine wichtige Rolle bei der transendothelialen Migration von Leukozyten (Walter et al. 2004).

Bei *T. forsythia* handelt es sich um einen nicht pigmentierten saccharolytischen, gramnegativen Anaerobier. Dieser Keim wächst langsam und ist anspruchsvoll bei der Anzucht (Murakami et al. 2002). *T. forsythia* gehört ebenfalls zu der Familie der Bacteroidaceae. Bei der Besiedlung des Keims an den mukosalen Oberflächen der Mundhöhle nimmt das Adhäsine Hämagglutinin eine bedeutende Rolle ein (Lépine et al. 1996). Das Bakterium führt durch Gewebsinvasine, ein trypsin- bzw. chymotrypsinähnliches Enzym und Peptidasen zur parodontalen Destruktion (Ohta et al. 1986, Uitto et al. 1988).

*T. forsythia* ist ebenfalls mit Parodontitiden assoziiert (Grossi et al. 1994, Haffajee et al. 1998) und an der Progression der Krankheit bei Erwachsenen beteiligt (Tanner et al. 1998a). Patienten mit persistierenden *T. forsythia* entwickeln etwa fünfmal häufiger Attachmentverlust, als Patienten, die negativ auf diesen Keim getestet wurden (Tran et al. 2001).

*T. denticola* ist ein helikal geformtes Bakterium. Dieser Spirochät führt über Hydrolasen, Kollagenasen, Proteasen und Stoffwechsel-, sowie Abbau- und Zerfallsprodukte (Endo- und Exotoxine) zu Gewebsdestruktionen (Ebersole et al. 1986, Murray et al. 1989, Sela 2001). Die Anzahl an *T. denticola* in der Plaque ist ein Indikator für die Progression der Parodontitis (Yoshida et al. 2004). Bei Patienten mit aggressiver und chronischer Parodontitis sind *T. denticola* und *P. gingivalis* häufig zusammen an Entnahmestellen mit großer Sondierungstiefe und schwerem Attachmentverlust nachweisbar (Takeuchi et al. 2001).

Allerdings lässt sich durch qualitative und quantitative Bestimmung von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia* oder *C. rectus* eine aggressive und chronische Parodontitis nicht eindeutig unterscheiden (Mombelli et al. 2002a). Der klinische Verlauf, das Alter und das Röntgenbild sind für die Einteilung der Parodontitiden unerlässlich. Parodontopathogene Mikroorganismen können je nach Prävalenz und Anzahl Auslöser der Parodontitis sein, sind aber allein genommen - ohne Vorhandensein eines anfälligen Wirts - nicht ausreichend, um die Erkrankung zu verursachen (Trombelli et al. 2003). Eine Elimination der Risikokeime führt in der Regel zur Stagnation der Parodontitis (Haffajee und Socransky 1994).

Einen Einfluss auf die Pathogenese der Parodontitis haben darüber hinaus genetische sowie prädisponierende Faktoren (Diabetes mellitus, HIV-Infektionen mit CD4-Zahlen von weniger als 200/mm<sup>3</sup>, neutrophile Granulozytendysfunktion, hyperaktiver Monozytentyp, IL-1-Genotyp), exogen modifizierende Faktoren (Rauchen und psychischer Stress), Umweltfaktoren und unterschiedliche pathogene Serotypen (Bascones-Martínez und Figuero-Ruiz 2004).

Rauchen ist ein Risikofaktor für eine schwere Parodontitis (Erdemir et al. 2004). Parodontale Erkrankungen kommen drei- bis sechsmal häufiger bei Rauchern als bei Nichtrauchern vor (Barbour et al. 1997). Die Effekte des Rauchens haben Auswirkungen auf die Immunantwort



des Wirts, die Prävalenz sowie den Schweregrad der Parodontalerkrankung und letztendlich auch auf die Parodontalbehandlung (Kinane und Chestnutt 2000). Rauchen schwächt die Immunantwort und Entzündungsreaktion des Wirts, indem es die Funktion der polymorphkernigen Neutrophilen vermindert (Hughes et al. 1985, Obeid und Bercy 2000) und die Antikörperproduktion verringert (Holt 1987, Johnson et al. 1990, Bouclin et al. 1997). Darüber hinaus beeinflusst Rauchen den Heilungsprozess dadurch, dass es die Aktivität der Phagozyten reduziert (Barbour et al. 1997) und die gingivale Fibroblastenfunktion herabsetzt (Haber 1994, James et al. 1999, Palmer et al. 2005). Im Vergleich zu Nichtrauchern liegen bei Rauchern tiefere Parodontaltaschen, ausgeprägtere Gingivarezessionen, vermehrter Alveolarknochenverlust, erhöhter Attachmentverlust, erhöhte Zahnbeweglichkeit und häufigerer Zahnverlust vor (Albandar et al. 2000, Kerdvongbundit und Wikesjo 2000, Haffajee und Socransky 2001).

### **2.3 Ziel einer Parodontitistherapie**

Um ein gutes Therapieergebnis mit lang anhaltendem Effekt zu erzielen, sollte als erstes die persönliche Mundhygiene verbessert werden. Im Vorfeld der Parodontitistherapie ist die Herstellung der Hygienefähigkeit zu berücksichtigen. Dabei steht die Beseitigung lokaler Defekte und anatomischer Besonderheiten - wie z.B. kariöser Zähne, nicht erhaltungswürdiger Zähne, Furkationen, parodontaler Rezessionen, Schmelzperlen und Frakturen - im Vordergrund. Bei konservativen und prothetischen Versorgungen sollten Oberflächenverarbeitung, Randschluss, Passfähigkeit sowie Okklusion kontrolliert werden und, falls erforderlich, korrigiert werden (Ketterl 1990).

Der Therapieerfolg beruht auf der Reduktion der parodontopathogenen Keime und der Verhinderung der Rekolonisation. Ziel einer Parodontitistherapie ist somit die Verringerung oder wenn möglich Beseitigung parodontopathogener Keime. Hierbei stellen Scaling und Root Planing sowie supragingivale Plaquebeseitigung die wirkungsvollsten Behandlungsmaßnahmen dar (Sbordone et al. 1990, Pedrazzoli et al. 1991, Ali et al. 1992, Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000, Ximénez-Fyvie et al. 2000b). Der Heilungsprozess hängt wesentlich von zwei Faktoren ab: zum einen von einer Verringerung der Gesamtanzahl an Mikroorganismen und zum anderen von einer prozentualen Reduktion bestimmter Markerkeime. Durch Scaling und Root Planing allein können oft weder die Leitkeime unter die Nachweisgrenze zurückgedrängt (Mombelli et al. 1994, Mombelli et al. 2000) noch alle

Kompartimente ausreichend erreicht werden (Christersson et al. 1986, Adriaens et al. 1988). Daher ist es therapeutisch sinnvoll, zusätzlich zur mechanischen Therapie Antibiotika einzusetzen. Antibiotika gelangen sowohl ins Gewebe als auch in die parodontale Tasche. Scaling und Root Planing mit adjuvanter Antibiotikatherapie haben eine zusätzliche positive Wirkung auf die subgingivale Mikroflora bei chronischer Parodontitis (Winkel et al. 1997, Feres et al. 2001). Das Ziel der adjuvanten Antibiotikatherapie ist eine Verringerung oder sogar Elimination der parodontopathogenen Keime in der parodontalen Tasche über die Wirkung von Scaling und Root Planing oder operativer Maßnahmen hinaus (Gordon und Walker 1993). Der günstigste Zeitpunkt für eine antimikrobielle Chemotherapie ist nach der instrumentellen Parodontitistherapie, um den Therapieeffekt zu steigern (Jousimies-Somer et al. 1988). Direkt nach der Entfernung der supra- und subgingival erreichbaren Beläge ist der Biofilm desintegriert und das Antibiotikum kann effizient wirken (Jousimies-Somer et al. 1988). Hierbei sollte die intra- und extraorale physiologische Keimflora möglichst wenig verändert werden, um eine Superinfektion mit pathogenen Erregern vorzubeugen. Die resultierende Bakterienverschiebung zugunsten grampositiver Aerobier kann zur parodontalen Heilung führen (Jorgensen und Ting 2005). Ein Erhalt bzw. eine Verbesserung des klinischen Attachmentlevels und eine Reduktion der Sondierungstiefe, die abhängig von der ursprünglichen Taschentiefe ist, kann hierbei erzielt werden (Hung und Douglass 2002). Eine alleinige antibiotische Therapie führt allerdings zu einem schlechteren Resultat als eine Kombination aus instrumenteller subgingivaler Reinigung und Antibiotikagabe (Listgarten et al. 1978, Berglundh et al. 1998). Eine zusätzliche supragingivale antiseptische Therapie mit Chlorhexidindigluconat und Mundspüllösungen mit ätherischen Ölen kann die Antibiotikatherapie wirkungsvoll unterstützen (Charles et al. 2004).

Um die Plaqueakkumulation gering zu halten, sollten die behandelten Patienten in einer unterstützenden Parodontitistherapie aufgenommen werden, in dem Mundhygiene- und Plaquekontrollen durchgeführt werden. Ziel dieser Kontrollen ist, eine stabile parodontale Situation zu schaffen (Rosling 1983, Lindhe und Liljenberg 1984, Cugini et al. 2000). Für den anhaltenden Behandlungserfolg ist auch eine langfristige Mundhygiene von Bedeutung (Mombelli 1998).

## 2.4 Antibiotika in der Parodontitistherapie

Für die adjuvante systemische Antibiotikatherapie zur Behandlung von Parodontitiden soll eine niedrige Risiko- und Kosten-Nutzen-Relation gewahrt werden. Nach einer wissenschaftlichen Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde beschränkt sich die Antibiotikaapplikation deshalb in der Regel nur auf folgende Erkrankungen (Beikler et al. 2004):

- Aggressive Parodontitis
- Schwere chronische Parodontitis
- Parodontitiden, die trotz vorangegangener Therapie progrediente Attachmentverluste aufweisen
- Parodontalabszess mit Tendenz zur Ausbreitung in die benachbarten Logen, Fieber und/oder ausgeprägter Lymphadenopathie
- Nekrotisierende, ulzerierende Gingivitis oder Parodontitis mit ausgeprägter Allgemeinsymptomatik (Fieber und/oder ausgeprägter Lymphadenopathie)
- Mittelschwere bis schwere Parodontitis bei systemischen Erkrankungen oder Zuständen, die die Funktion des Immunsystems beeinträchtigen. Hierbei ist besonders auf eine potentielle Antibiotika-induzierte Superinfektion durch andere Erreger, wie z.B. *Candida albicans* zu achten

Für die Indikation einer prophylaktischen Antibiotikaabschirmung bei Patienten mit systemischen Erkrankungen, wie z.B. bei erhöhtem Endokarditisrisiko, wird auf die Empfehlung der American Heart Association von 1997 verwiesen (Fessler 1983, Child 1996, Dajani et al. 1997, Flemmig und Karch 1997, Horstkotte 1999).

Es stehen als Verabreichungsformen die lokale und die systemische Antibiotikagabe zur Auswahl. Der Vorteil der lokalen Antibiotikatherapie liegt in der hohen lokalen Konzentration am Infektionsort und der besseren Wirkung auf den Biofilm ohne systemische Nebenwirkungen. Selbst systemisch unverträgliche Substanzen sind bei topischer Gabe verwendbar. Durch die einmalige Applikation durch den Zahnarzt ist die Wirksamkeit unabhängig von der Patientencompliance. Nachteilig ist der kleine Wirkradius, der nicht behandelte kranke Nachbarparodontien nicht erreicht. Diese nicht behandelten Stellen können zu einer Reinfektion der behandelten parodontalen Taschen führen. Medikamententräger ohne Trägersubstanz garantieren keine standardisierte Freisetzung des Antibiotikums, so dass die Entwicklung von Resistenzen begünstigt sein kann (Slots und Jorgensen 2002).

Die systemische adjuvante Antibiotikabehandlung erfolgt meist oral. Die systemische Applikation hat den Vorteil, alle parodontalen Taschen und auch andere bakterielle Nischen der Mundhöhle wie die Zunge, Wangen oder die Tonsillen zu erreichen. Es besteht auch die Möglichkeit, je nach bakterieller Besiedlung, Antibiotika miteinander zu kombinieren (z.B. Amoxicillin und Metronidazol). Eine wichtige pharmakokinetische Eigenschaft, die ein Antibiotikum aufweisen sollte, ist eine hohe Bioverfügbarkeit, d.h. dass der Wirkstoff fast vollständig im Magen-Darm-Trakt resorbiert wird und dann in wirksamer Konzentration im Organismus vorliegt, um in das Saum- oder Taschenepithel der parodontalen Tasche zu gelangen. Dort sollte in der Sulkusflüssigkeit mindestens eine zehnfache minimale Hemmkonzentration (MHK) während der Applikationsdauer erreicht werden, um pathogene Keime zu eliminieren und Resistenzen zu vermeiden (Eick et al. 1998, Kleinfelder und Müller 1998, Poulet et al. 1999, Conway et al. 2000). Bei Unterdosierung kann eine systemische Antibiose eine zu geringe Konzentration am Wirkort erreichen und nur unzureichende klinische Therapieerfolge erzielen (Loesche 1994). Des Weiteren besteht hier ein Risiko zur Ausbildung von Resistenzen (Baquero 2001, Roberts 2002). Die Einnahme nach der Dosierungsanleitung bei der systemischen Antibiotikaverabreichung unterliegt der Patientencompliance und kann ein instabiler Faktor sein. Nebenwirkungen können auch Folge der systemischen Antibiotikabehandlung sein (Slots und Rams 1990). Ob mögliche Interaktionen des Antibiotikums mit anderen Medikamenten oder eine Allergie vorliegen, ist stets vor der Einnahme abzuklären.

Bei der adjuvanten Antibiotikabehandlung der Parodontitis haben sich Metronidazol - teilweise in Kombination mit Amoxicillin - und Tetracycline bewährt.

Metronidazol zeigt sowohl gegenüber Keimen aus dentogenen Abszessen bei Superinfektionen als auch bei rasch fortschreitender Parodontitis bakterizide Wirkung. Dieses Antibiotikum besitzt eine gute antibiotische Wirksamkeit gegen Anaerobier und Protozoen. Es wirkt gegen Bacteroidesspezies, Fusobakterien, Spirochäten (z.B. *T. denticola*), Porphyromonas- und Prevotella-Stämme. Metronidazol ist unwirksam gegen fakultativ anaerobe Keime wie *A. actinomycetemcomitans* und *E. corrodens* (Eick et al. 1998).

Amoxicillin ist ein Breitspektrumpenizillin mit größerer Wirksamkeit gegenüber gramnegativen aeroben Keimen. Der Wirkungsmechanismus des Antibiotikums ist sekundär bakterizid durch Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese. Einige Anaerobier können jedoch Betalactamasen produzieren, so dass Amoxicillin unwirksam werden kann (Al-Nawas 2002). In diesem Fall kann die Resistenz oft überwunden werden, indem Amoxicillin zusammen mit einem Betalactamase-Inhibitor (Clavulansäure) als fixe Kombination (Augmentan®) gegeben wird. Clavulansäure bindet an die Betalactamase und inaktiviert damit das Enzym. Bei dentogenen Infektionen hat dieses Präparat daher eine gute Wirksamkeit (Buff et al. 2001).

Eine Kombination aus Metronidazol und Amoxicillin verfügt über ein sehr breites Wirkungsspektrum (aerobe und anaerobe Keime). Diese Kombination weist eine synergistische Wirkung gegenüber dem Erreger *A. actinomycetemcomitans* auf (Pavicic et al. 1991, Flemmig et al. 1998a, Flemmig et al. 1998b). Diese Kombinationstherapie kann insbesondere bei (lokalisierter) aggressiver Parodontitis eingesetzt werden.

Systemisch verabreichte Tetracycline kommen regelmäßig zum Einsatz bei der Behandlung von Parodontitiden. Hierbei stellt Doxycyclin einen wichtigen Vertreter aus der Tetracyclin-Gruppe dar, der bei der adjuvanten Antibiotikatherapie verabreicht werden kann (Van Winkelhoff et al. 1996).

Tetracycline wirken bakteriostatisch gegen zahlreiche grampositive und gramnegative Bakterien wie z.B. Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken und Aktinomyzeten (Lemmer und Bune 2004). Gute Wirksamkeit besitzen die Tetracycline auch gegen Protozoen und atypische intrazelluläre Erreger wie Mykoplasmen, Chlamydien und Rickettsien (Lemmer und Brune 2004). Doxycyclin wird bei Infektionen des Respirationstrakts, bei Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts und bei Akne eingesetzt. Aufgrund seiner besonders guten Gewebegängigkeit wird es bei der adjuvanten Antibiotikatherapie bei schweren chronischen und aggressiven Parodontitiden eingesetzt (Stoller et al. 1998). Als orales Breitbandspektrumantibiotikum ist Doxycyclin gegen folgende parodontopathogene Keime wirksam: *T. forsythia*, *E. corrodens* und *A. actinomycetemcomitans* (Hoffler et al. 1980, Goodson und Tanner 1992, Müller et al. 2002). Allerdings ist Doxycyclin gegen einige Porphyromonas- und Prevotella-Stämme und gegen Keime odontogener Mischinfektionen nicht ausreichend wirksam (Eick et al. 1999, Cachovan et al. 2003). In einer *in-vitro*-Studie zeigten Bakterien eine größere Empfindlichkeit gegenüber Doxycyclin im Vergleich zu Tetracyclin (Gordon und Walker 1993). Die von Streptomyces-Arten gewonnenen Tetracycline bestehen aus vier (Tetra-) linear kondensierten Sechseringen (-cycline). Doxycyclin ist ein halbsynthetisches Tetracyclin. Die chemische Struktur von Doxycyclin ist gekennzeichnet durch eine Hydroxid-Gruppe an Position 5 und eine Methyl-Gruppe an Position 6. Der antimikrobielle Wirkungsmechanismus der Tetracycline beruht auf der bakteriostatischen Hemmung der Proteinsynthese. In Abhängigkeit ihrer Lipophilie verteilen sich Tetracycline gut im Körpergewebe und werden außerdem aktiv von Wirtszellen aufgenommen (Karow und Lang 1997, Brayton et al. 2002). Auch *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis*, die im Epithel persistieren können, werden durch Tetracycline eliminiert (Mombelli et al. 2002b, Lemmer und Brune 2004, Walker et al. 2004). Tetracycline erreichen zwei- bis vierfach höhere Spiegel im Sulkusfluid als im Blut (Gordon et al. 1981, Pascale et al. 1986). Doxycyclin wird aufgrund seiner hohen Lipidlöslichkeit mit 90% sehr gut resorbiert und verteilt sich gut im Körpergewebe. Die Serumhalbwertszeit von Doxycyclin beträgt 12-18 Stunden (Karow und Lang 1997). Die Substanz wird sowohl über die Nieren als auch über die Galle ausgeschieden (Aktories et al. 2005). Tetracycline wirken zusätzlich auf den

Gewebestoffwechsel. In subinhibitorischen Konzentrationen hemmen Tetracycline die Matrix-Metall-Proteinasen (MMP-8, MMP-13) des Wirts (Caton et al. 2001, Emingil et al. 2004) und üben einen katabolen, antinflammatorischen Effekt aus (Gabler und Creamer 1991, Golub et al. 2001, Ciano 2002). Weiterhin stimulieren Tetracycline die Osteoblasten (Golub et al. 1991, Rifkin et al. 1993), inhibieren die Knochenresorption (Ingman et al. 1993, Rifkin et al. 1993, Golub et al. 1997) und fördern das Fibroblastenattachement auf der Wurzeloberfläche (Terranova et al. 1986, Seymour und Heasman 1995). Die Nebenwirkungen sind dosisabhängig. Eine gemeinsame Einnahme mit Milch, Milchprodukten, Antazida, calciumhaltigen Arzneimitteln oder Eisenpräparaten ist zu vermeiden. Bei Kindern bis zum achten Lebensjahr ist Doxycyclin wegen möglicher Zahnverfärbungen, Zahnschmelzschädigungen, einer Verzögerung des Knochenwachstums und der häufigen Photosensibilisierung als Therapeutikum nicht zu verordnen. Die wichtigsten Nebenwirkungen bei der Doxycyclintherapie bei Erwachsenen sind mit einer Häufigkeit von < 1% Leukozytopenien, toxische Granulation der Granulozyten, Leberschädigungen und Nierenschädigungen. Während der Schwangerschaft und Stillzeit sind Tetracycline kontraindiziert. Neben der systemischen Tetracyclingabe, gelangen lokal anzuwendende Medikamententräger, die kontinuierlich eine hohe Wirkkonzentration im Sulkus erreichen, zunehmend in den Mittelpunkt der adjuvanten Antibiotikabehandlung (Seymour und Heasman 1995).

Verschiedene Studien ergaben unterschiedliche Ergebnisse der klinischen und mikrobiologischen Wirksamkeit bei systemischer bzw. lokaler Doxycyclintherapie. In einigen Arbeiten hat eine systemische bzw. lokale Doxycyclingabe keinen signifikanten Effekt auf die Anzahl, Verteilung und proportionale Wiederbesiedlung mikrobiologischer Keime (Feres et al. 1999a, Jorgensen et al. 2004). In einer Studie von Akalin (2004) wird eine lokale Doxycyclingabe zur Unterstützung der instrumentellen Behandlung der systemischen Doxycyclingabe vorgezogen, da die lokale Anwendung die Taschentiefe effektiver reduziert und weniger Nebenwirkungen hat. Bei Patienten mit schwerer generalisierter chronischer Parodontitis bewirken supra- und subgingivale Plaque- und Zahnsteinentfernungen in Kombination mit einer subantimikrobiellen Dosis von Doxycyclin eine deutliche anhaltende klinische sowie statistische Verbesserung (Corsair 1994, Golub et al. 2001, Preshaw et al. 2004, Ratka-Krüger et al. 2005). Es zeigt sich nach systemischer Doxycyclingabe eine Zunahme der resistenten Stämme einiger Spezies wie z.B. *E. corrodens* und *Streptococcus oralis* u.a. in der Plaque und im Speichel (Feres et al. 1999b, Rodriguez et al. 2004).

Chinolone stellen neuere Breitbandspektrumantibiotika dar. Neuere Substanzen dieser Gruppe wie Moxifloxacin sind bakterizid wirksam gegenüber Anaerobier und grampositiven Erregern. Chinolone binden an die bakterielle Topoisomerase II ("DNA-Gyrase") und an die bakterielle Topoisomerase IV. Über eine Hemmung der DNA-Replikation, Reparation und Transkription führt dieses letzten Endes zum Zelltod des Erregers (Dong et al. 1998). Eine Resistenzbildung durch ein schrittweises Anhäufen von Mutationen in den beiden Zielenzymen (Heisig 1996, Janoir et al. 1996) und ebenso durch den Mechanismus des aktiven Efflux ist beschrieben worden (Kaatz und Seo 1997, Gill et al. 1999, Hooper 2001).

Als häufigste unerwünschte Nebenwirkungen während der Einnahme wurden gastrointestinale Störungen beschrieben. Ferner können Störungen des ZNS und der Hämatopoese auftreten, selten Exantheme, Hautausschläge oder Photosensibilisierungen (Saravolatz und Leggett 2003). Die gleichzeitige Einnahme von mineralischen Antazida oder 2- bzw. 3-wertigen Kationen kann die Aufnahme der Substanzen ins Blut beeinträchtigen (Blondeau 1999, Stass und Kubitzka 2001). In der Schwangerschaft, Stillzeit, Wachstumsperiode, bei Epilepsie, stark eingeschränkter Leberfunktion und bei QT-Prolongation im EKG sind Chinolone kontraindiziert (Aktories et al. 2005).

Ciprofloxacin gehört zur Gruppe II der Chinolone (Naber und Adam 1998). Gramnegative Bakterien werden bakterizid durch Ciprofloxacin abgetötet. Auch gegen Enterobakterien und Pseudomonaden in der superinfizierten Tasche ist das Antibiotikum wirksam. In Einzeluntersuchungen hat sich die adjuvante Parodontitistherapie mit Ciprofloxacin speziell bei Vorliegen von *A. actinomycetemcomitans* als erfolgreich erwiesen (Müller und Heinecke 1998, Müller et al. 2002). Die Bestimmung der Resistenz gegenüber Ciprofloxacin ergab sehr niedrige MHK-Werte bei *A. actinomycetemcomitans* und *E. corrodens* (Eick et al. 1999).

Moxifloxacin gehört zur Gruppe IV der Chinolone (Naber und Adam 1998). Es ist seit September 1999 in Deutschland auf dem Markt und wird vorwiegend zur Behandlung bei Infektionen des Respirationstraktes und bei Haut- und Weichteilinfektionen eingesetzt (Krasemann et al. 2001, Talan 2001).



Die Strukturformel von Moxifloxacin zeigt, dass ein bicyclischer aromatischer Kern vorliegt. Die vermehrte Wirksamkeit gegenüber Anaerobiern und grampositiven Keimen besonders *Streptococcus pneumoniae* ist durch die N-1 Cyclopropyl-Gruppe zu erklären (Saravolatz und Leggett 2003). Die Pyrrolodiny-Gruppe an Position 7 bewirkt ebenfalls eine verbesserte Aktivität gegen grampositive Bakterien. Von der chemischen Struktur unterscheidet es sich weiterhin von den anderen Chinolonen durch eine Methoxygruppe an der Position 8. Diese Veränderung ist offenbar für die vergleichsweise hohe Photostabilität des Moleküls und die verstärkte Aktivität gegenüber anaeroben Bakterien verantwortlich (Andersson et al. 2003).

Nach der Einnahme der oralen Standarddosierung von 400 mg p.o. pro Tag (Blondeau und Hansen 2001) beträgt die Halbwertszeit 12 Stunden. Die Bioverfügbarkeit liegt bei 90% (Balfour und Wiseman 1999). Die bakterizide Wirkung von Moxifloxacin ist konzentrationsabhängig (Boswell et al. 1997, Klugman und Capper 1997, Dalhoff 1999) und hält über 8 Stunden an (Milazzo et al. 2002). Das Antibiotikum wird in der Leber metabolisiert (Kern et al. 1996). Die Metabolite werden sowohl über die Nieren als auch die Fäzes eliminiert (Stass und Kubitz 1999).

Grampositive und gramnegative Krankheitserreger werden durch Moxifloxacin abgetötet (Biedenbach et al. 1998, Blondeau 1999, Dalhoff 1999). Moxifloxacin ist wirksam gegen Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken, Anaerobier und atypische Keime (Dalhoff et al. 1997).

*In-vitro* zeigt Moxifloxacin gegenüber zahnmedizinisch relevanten parodontopathogenen Keimen und odontogenen Abszesserregern eine gute Aktivität (Pfister et al. 2001, Milazzo et al. 2002, Müller et al. 2002, Cachovan et al. 2003). Eine weitere *in-vitro*-Studie zeigt Moxifloxacin als effizientes Antibiotikum bei intrazellulärer Infektion mit *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* und *Streptococcus constellatus* (Eick et al. 2004a).

## 2.5 Mikrobiologische Diagnostik

Von besonderem Interesse für den klinischen Verlauf einer Parodontitis ist die Bestimmung der Leitkeime mit Hilfe der mikrobiologischen Diagnostik (Nieminen et al. 1996). Eine mikrobiologische Untersuchung sollte stets vor der antimikrobiellen Therapie erfolgen.

Für die Probenentnahme zur mikrobiologischen Diagnostik wird der Zahn supragingival gereinigt und trockengelegt. Mit einer Papierspitze oder einer sterilen Kürette wird die Probe am Taschenfundus entnommen. Der Transport der Plaqueproben richtet sich nach der geplanten mikrobiologischen Analyse (Stelzel et al. 2003).

Mit mikroskopischen Verfahren (Dunkelfeld-, Phasenkontrastmikroskopie) kann eine morphologische Unterscheidung parodontopathogener Bakterien erfolgen wie z.B. von Spirochäten. Die Anzüchtung der Keime auf Nährböden unterscheidet und bestimmt Bakterien einer subgingivalen Plaqueprobe. Diese diagnostische Technik dient als Referenzmethode bei der Prüfung neuer mikrobiologischer Verfahren. Mit einer Nachweisgrenze von  $10^3$  -  $10^4$  Bakterienzellen bietet die Kulturmethode neben einer relativen und absoluten Bestimmung der Keimzahl auch die Möglichkeit, eine Resistenzbestimmung gegenüber Antibiotika durchzuführen (Marchal et al. 1991, Lamster et al. 1993). Allerdings benötigt das Verfahren Lebendkeime, die bestimmte Wachstumsbedingungen erfordern und nur im speziell eingerichteten Labor kultivierbar sind. Der Kulturnachweis ist nicht durchführbar bei nicht anzüchtbaren oder abgestorbenen Keimen und nur begrenzt bei schwer anzüchtbaren Bakterien, z.B. Spirochäten möglich. Hinzu kommt, dass die Kultivierung von Bakterien zeit- und kostenintensiv ist. Mittlerweile spielen immunologische, enzymatische und molekularbiologische Nachweismethoden eine große Rolle bei epidemiologischen und klinischen Studien in der Parodontologie.

Ein schnelles älteres Verfahren zum Nachweis weniger Keime ist der sogenannte BANA-Test. In diesem Test lässt sich eine trypsinähnliche Proteasenaktivität der Spezies *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* und Capnocytophaga-Spezies in einer enzymatischen Farbreaktion mit N-Benzoyl-DL-Arginin-b-Naphtylamid (BANA-Test) nachweisen. Kommerzielle Anwendungen dieses Verfahrens haben sich aber aufgrund ihrer geringen Spezifität und Sensitivität nicht durchgesetzt (Loesche et al. 1986, Beck et al. 1990).

Immunologische Verfahren verwenden polyklonale oder monoklonale Antikörper, die spezifische bakterielle Antigene erkennen und daran binden. Diese Antigen-Antikörper-Reaktion kann in verschiedenen Methoden und Reaktionen durch Farbstoffe sichtbar gemacht werden, z.B. bei direkter und indirekter Immunfluoreszenz, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) und Latexagglutination (Greenstein 1988, Lamster et al. 1993). Nachweise mittels Antigen-Antikörper-Reaktion ergeben eine quantitative oder semiquantitative Auswertung der oralen Keime. Die indirekte Fluoreszenzmethode ist sensitiver gegenüber Zielkeimen als die bakterielle Anzüchtung (Zambon 1985, Zambon et al. 1986, Listgarten et al. 1995). Die Nachweisgrenze für immunologische Verfahren liegt bei  $\geq 10^3$  Keimen. Immunologische Verfahren sind nicht an Lebendkeime gebunden.

Molekularbiologische Nachweistechiken stützen sich vorwiegend auf die Analyse der DNA. Hierfür werden spezifische DNA-Fragmente eingesetzt, die komplementäre bakterielle DNA-Sequenzen der Mikroorganismen erkennen. Zu den Verfahren zählen der Einsatz von DNA-Sonden sowie die Polymerasekettenreaktion. Bei DNA-Sonden handelt es sich um radioaktiv- oder enzymmarkierte DNA. Die DNA-Sonden hybridisieren mit der komplementären Nukleinsäuresequenz des Zielkeims mit dem Ergebnis der Sichtbarmachung des spezifischen Keims (Dawson et al. 1996, Tanner et al. 1998b, Crockett und Wittwer 2001). Zumeist werden Oligodeoxynukleotide eingesetzt, die sich gegen die 16S rDNA richten (Moncla et al. 1990). Verglichen mit der Kulturmethode zeigen die DNA-Sonden beim Nachweis von *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* und *P. intermedia* eine größere Sensitivität (Savitt et al. 1988). Die Nachweisgrenze für DNA-Sonden liegt bei  $\geq 10^3$  Keimen. Eine andere schnelle und effektive Methode, spezifische parodontopathogene Bakterien nachzuweisen, ist die Polymerasekettenreaktion ("Polymerase Chain Reaction", PCR). Die Polymerasekettenreaktion besteht aus drei Reaktionsabschnitten, die sich zyklisch wiederholen. Mit der von Mullis et al. (1986) entwickelten Methode wird selektiv ein DNA-Fragment durch die hitzestabile Taq-DNA-Polymerase exponentiell amplifiziert. Die eingesetzten Oligonukleotide (Primer) dienen in dieser Reaktion einerseits als Startermoleküle und legen andererseits die Termination des zu vervielfältigenden Abschnitts der DNA fest. Unterschiedliche Sonderformen der PCR werden eingesetzt: Multiplex PCR und quantitative PCR. Die Multiplex PCR ermöglicht die Vervielfältigung mehrerer DNA-Abschnitte in einer Reaktion (García et al. 1998), während die quantitative PCR die mengenmäßige Bestimmung der DNA-Abschnitte erlaubt (Doungudomdacha et al. 2001). Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Real-Time PCR stellt eine quantitative Methode dar, bei der ein

Fluoreszenzfarbstoff eingesetzt wird. Während der Vervielfältigung eines spezifischen DNA-Fragments gibt dieser Farbstoff ein Fluoreszenzsignal ab, das direkt proportional zur Ausgangsmenge des gesuchten Erregers ist (Maeda et al. 2003). Die Nachweisgrenze der PCR liegt bei  $\geq 10^2$  Zellen. Bestimmte Keime werden somit häufiger und genauer in der PCR nachgewiesen als in der Kulturmethode (Riggio et al. 1996, Ashimoto et al. 1996, Eick und Pfister 2002a). Das Verfahren verfügt über eine hohe Sensitivität. Weitere Vorteile sind eine einfache Probengewinnung sowie ein relativ geringer Aufwand bei moderaten Kosten. Allerdings ist die Nachweismethode anfällig gegenüber Verunreinigungen. Außerdem sind kleine Mengen der DNA nur schwierig nachzuweisen (Gibbs 1990, Neumaier et al. 1998). Um eine hohe Spezifität der PCR zu erreichen, sollten daher die optimalen Reaktionsbedingungen eingehalten werden (Singer und Berg 1992).

Die Auswahl eines mikrobiologischen Verfahrens richtet sich nach dem Anspruch an Spezifität, Sensitivität und Praktikabilität. Dabei haben sich die molekularbiologischen Verfahren, insbesondere die Polymerasekettenreaktion, als sehr effektiv herausgestellt (Tanner et al. 1998b, Jervoe-Storm et al. 2004, Nonnenmacher et al. 2005).

### 3 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die mikrobiologische Wirksamkeit der adjuvanten Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin bei schwerer chronischer Parodontitis im Vergleich zu zwei weiteren bereits etablierten Behandlungsansätzen zu untersuchen. Des Weiteren sollte die Verteilung von vier Leitkeimen (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) und die Wirksamkeit der drei Behandlungsansätze bei diesen spezifischen Erregern ermittelt werden.

In dieser Arbeit sollte die mikrobiologische Wirksamkeit von Moxifloxacin nach instrumenteller Therapie im Vergleich zu Doxycyclin nach instrumenteller Therapie oder alleiniger instrumenteller Therapie untersucht werden. Der antimikrobielle Effekt des jeweiligen Behandlungsansatzes wurde 3, 6 und 12 Monate nach Antibiotikaaanwendung anhand der Verteilung der vier Leitkeime bestimmt. Es wurde der Fragestellung nachgegangen, ob Moxifloxacin der herkömmlichen instrumentellen Therapie gleichwertig oder gar überlegen war. Weiterhin sollte ermittelt werden, welches von den zwei verschiedenen Antibiotikakzepten - Moxifloxacin oder Doxycyclin - in der Klinik das mikrobiologisch wirksamere Antibiotikum darstellt. Dabei war zu klären, inwieweit die Wirksamkeit vom jeweils vorliegenden Erregerspektrum abhing. Ebenfalls galt es zu überprüfen, ob Unterschiede im Behandlungsergebnis zwischen Nichtrauchern und Rauchern bestanden.

Von weiterem Interesse waren die Optimierung der PCR zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* und die Charakterisierung der Verteilung der vier pathogenen Leitkeime (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) bei chronischer Parodontitis vor der Behandlung.

## **4 Material und Methoden**

### **4.1 Studienaufbau**

Die an der Studie teilnehmenden Zahnärzte wurden zur einheitlichen Durchführung der Diagnostik und Therapie in der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie des Universitätsklinikums Leipzig unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. habil. Holger Jentsch entsprechend instruiert und geschult. An der Studie nahmen Frau Dr. dent. Tina Seltsmann und Herr Dr. dent. Arndt Güntsch der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Professor Dr. med. habil. Eike Glockmann) und Frau Zahnärztin Sabine Zimmermann teil. Die Auswertung der Proben wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena durchgeführt. Die Studie wurde von den Ethikkommissionen der entsprechenden Einrichtung genehmigt.

In die Studie wurden 47 Patienten einbezogen. Alle Patienten hatten zu Studienbeginn eine schwere Form der chronischen Parodontitis. Die 47 Probanden wurden zufällig drei Gruppen zugeteilt. Bei den drei Patientengruppen wurden jeweils unterschiedliche Behandlungsmethoden durchgeführt. Bei der ersten Gruppe handelte es sich um eine Deep Scaling- und Root Planing-Therapie mit adjuvanter systemischer Antibiotikagabe von Moxifloxacin. Die zweite Gruppe erhielt eine Deep Scaling- und Root Planing-Therapie in Kombination mit einer adjuvanten systemischen Antibiotikabehandlung mit Doxycyclin als etabliertes Antibiotikum. In der dritten Gruppe wurde eine alleinige Therapie mittels Deep Scaling und Root Planing durchgeführt. Der Behandlungs- und Beobachtungszeitraum erstreckte sich über 12 Monate, während dessen die Patienten insgesamt achtmal untersucht wurden. Bei der Studie sollte die mikrobiologische Wirksamkeit einer systemischen Antibiose mit Moxifloxacin nach konventioneller instrumenteller Parodontistherapie im Vergleich zu zwei anderen Behandlungsansätzen bei Patienten mit einer schweren Form der chronischen Parodontitis untersucht werden.

#### **4.1.1 Auswahl der Probanden**

Im Rahmen einer Voruntersuchung wurden eine allgemeine und spezielle Anamnese sowie eine parodontologische und röntgenologische Untersuchung durchgeführt. Die Diagnose chronische Parodontitis wurde anhand des radiologischen und parodontalen Befundes in Verbindung mit dem Alter und der parodontalen Anamnese gestellt.

Die Patienten mit einer schweren chronischen Parodontitis mussten, um in die Studie aufgenommen zu werden, mindestens 25 Jahre alt sein und mindestens an fünf Zähnen Taschen mit einer Sondierungstiefe von  $\geq 5$  mm nach Initialtherapie aufweisen. Weitere Einschlusskriterien waren eine Bezahnung von mindestens 20 eigenen Zähnen sowie eine gute Compliance und Oralhygiene.

Als Ausschlusskriterien galten parodontalchirurgische Maßnahmen während der letzten 24 Monate, schwere Allgemein- oder Stoffwechselerkrankungen, Schwangerschaft und Stillperiode sowie eine Antibiotikatherapie in den letzten 6 Monaten. Eine Allergie gegen Moxifloxacin oder Doxycyclin durfte nicht vorliegen. Nichtraucher und Raucher bzw. männliche und weibliche Probanden wurden den drei Behandlungsansätzen zugeordnet.

Innerhalb der Voruntersuchung unterzeichneten alle Probanden eine Einverständniserklärung nach Aufklärung über Art, Ablauf und Zielsetzung der klinischen Studie.

#### **4.1.2 Klinischer Behandlungsablauf**

##### *Initialtherapie und instrumentelle Parodontitistherapie*

Die Voruntersuchung umfasste eine spezielle Aufklärung über das Krankheitsbild, den Behandlungsverlauf und das Therapieziel der Studie. Darüber hinaus erhielten die Patienten eine professionelle Zahnreinigung mit ausführlichen Mundhygieneinstruktionen.

Die Initialtherapie beinhaltete die Entfernung aller harten und weichen supragingivalen Beläge in zwei Mundhygienesitzungen. Diese wurden einmal mittels Ultraschall und einmal manuell durchgeführt. Anschließend erfolgte die Politur mit Gummikelch, Prophylaxepaste und rotierenden Interdentalbürsten. Die Patienten mussten nach der Initialtherapie einen Approximalraum-Plaqueindex (API)  $< 30\%$  aufweisen (Lange et al. 1977).

In der Voruntersuchung, Basisuntersuchung und in den drei Nachkontrollen wurden bei allen in Frage kommenden Patienten folgende klinische Parameter erfasst: Sondierungstiefen, Attachmentverlust, "Bleeding on Probing"-Index (BOP) und Plaque-Index (PI) (Silness und Loe 1964) nach der Sechspunktmethode.

Nach dem Baseline-Befund mit Erfassung der klinischen Parameter für Gingivitis und Plaqueakkumulation wurden bei allen Patienten eine Deep Scaling- und Root Planing-Therapie durchgeführt. Zunächst spülten die Patienten 60 s mit einer 0,12%igen Chlorhexidinlösung ohne Alkoholzusatz. Das Deep Scaling und Root Planing erfolgte mit Handinstrumenten (Gracey-Küretten). Bei mehrwurzeligen Zähnen kam zusätzlich Ultraschall zum Einsatz. Die instrumentierten Taschen wurden anschließend mit physiologischer Natriumchloridlösung gespült. Falls erforderlich, wurde nach 6 Monaten eine subgingivale Nachreinigung durchgeführt.



### *Antibiotikatherapie*

Die systemische Antibiotikagabe wurde nach Abschluss der instrumentellen Parodontitisbehandlung (Deep Scaling und Root Planing) der betroffenen Zähne in Tablettenform durchgeführt.

Die 47 Patienten wurden in drei Gruppen aufgeteilt:

- Gruppe 1 erhielt 1 x täglich 400 mg Moxifloxacin über 7 Tage (Avalox<sup>®</sup>, Bayer-Vital, Wuppertal)
- Gruppe 2 erhielt einmalig 200 mg Doxycyclin am ersten Tag, dann 1 x täglich 100 mg Doxycyclin über 6 Tage (Doxycyclin-ratiopharm<sup>®</sup>, Ratiopharm, Ulm)
- Gruppe 3 erhielt kein Antibiotikum

Die Patienten der Gruppe 1 und 2 wurden von dem behandelnden Zahnarzt über die Einnahmeweise instruiert und über eventuelle Nebenwirkungen des jeweiligen Antibiotikums aufgeklärt.

### *Nachkontrollen*

Ausgehend vom Abschluss der instrumentellen Parodontistherapie wurden zweimal im Abstand von jeweils 3 Monaten bzw. einmal im Abstand von 6 Monaten drei Nachkontrollen zur klinischen Reevaluation (Sondierungstiefen, Attachmentverlust, BOP, PI), mikrobiologischen Probenentnahme, Prophylaxe und Remotivation durchgeführt. Die Vorgehensweise entsprach der der Basisuntersuchung.

## 4.2 Mikrobiologische Probenentnahme

Mikrobiologische Proben wurden zu vier Zeitpunkten entnommen - während der Basisuntersuchung (t1) und den Nachkontrollen nach 3 (t2), 6 (t3) und 12 (t4) Monaten (Abb. 1).

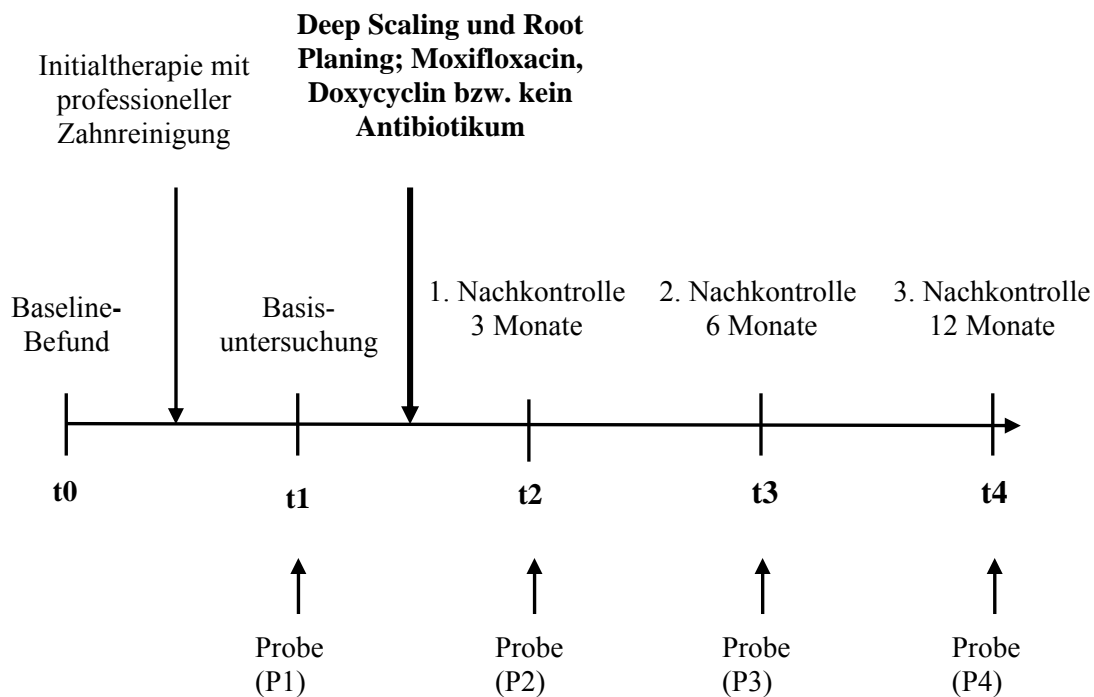


Abb. 1: Verlauf der Therapie und Nachkontrollen bei Patienten mit chronischer Parodontitis

Für die Untersuchung der Mikroflora und des antimikrobiellen Effektes der adjuvanten Antibiotikatherapie wurden bis zu drei Taschen pro Kiefer mit einer Sondierungstiefe von  $\geq 5$  mm einbezogen. Zur Probenentnahme wurde eine sterile Papierspitze bis zum Fundus der Tasche eingeschoben und verblieb dort 30 Sekunden. Ohne mit Speichel oder Schleimhaut in Kontakt zu kommen, wurde die Papierspitze entfernt und in einem Plastikröhrchen aufbewahrt. Die subgingivalen Plaqueproben der 47 Probanden wurden bei  $-20^{\circ}\text{C}$  im Gefrierschrank gelagert.

Für jede Probe wurden das Geburtsdatum des Patienten, die Entnahmestelle, das Entnahmedatum und -zentrum sowie die jeweilige Zeit der Probenentnahme (t1-t4) in eine Tabelle eingetragen. Anschließend wurden die Proben fortlaufend nummeriert.

Im weiteren Verlauf wurden die DNA-Isolierung und der Nachweis der vier parodontopathogenen Leitkeime *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* und *T. forsythia* mittels Real-Time PCR vorgenommen und tabellarisch vermerkt.

### 4.3 DNA-Isolierung

Die DNA-Isolierung verläuft nach folgender Wirkungsweise:

In Anwesenheit eines chaotropen Salzes (Guanidinium-HCl) werden die Zellen während der Inkubation mit Proteinase K aufgelöst. Das Salz inaktiviert sofort alle Nukleasen. Die Proteinase K ist eine Endopeptidase, die unselektiv mit sämtlichen Peptid- und Proteinsubstraten reagiert und deren Peptidbindungen spaltet. Der Durchfluss mit der DNA wird dann unter hohen Salzkonzentrationen selektiv an die Membran aus Kieselgel in den Filtersäulen gebunden. Durch wiederholtes Waschen und Zentrifugieren werden zelluläre Komponenten beseitigt. Die DNA wird von restlichen Protein-, Polysaccharid-, Salzanteilen oder anderen zellulären Verunreinigungen befreit. Anschließend werden die Nukleinsäuren mit einem Elutionspuffer geringen Salzgehaltes aus der Membran aus Kieselgel gelöst (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

Alle Arbeiten wurden unter kontaminationsfreien Bedingungen durchgeführt. Der Arbeitsraum war weitestgehend frei von DNA. Während der Extraktion der DNA wurden Latex-Handschuhe getragen. Bei jedem Schritt wurde eine neue Pipettenspitze benutzt. Die DNA-Isolierung zum Nachweis der vier parodontopathogenen Keime (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) erfolgte mit dem "High Pure PCR Template Preparation Kit" der Firma Roche Diagnostics GmbH nach folgendem Protokoll:

In jedes Probenröhrchen, das eine Papierspitze enthielt, wurden 200 µl Gewebe-Lysepuffer ("Tissue-Lysis buffer") pipettiert, 30 s gut gemischt (Vortexgerät) und ca. 10 s bei max. Geschwindigkeit (13000 × g) zentrifugiert. Dann wurde 40 µl Proteinase K-Lösung zugegeben, vermischt (Vortexgerät) und 10 min bei 95°C in einem Thermomixer unter Schütteln inkubiert. Anschließend wurde die Lösung ca. 10 s bei max. Geschwindigkeit (13000 × g) zentrifugiert. Danach wurden 200 µl Bindungspuffer ("Binding buffer") hinzugefügt, vermengt (Vortexgerät) und 5 min bei 95°C in einem Thermomixer unter Schütteln inkubiert. Anschließend wurde die Lösung ca. 10 s bei max. Geschwindigkeit

(13000  $\times$  g) zentrifugiert. Es wurden 100  $\mu$ l Isopropanol in jedes Probenröhrchen zugegeben und gemischt. Eine Filtersäule wurde in ein neues Auffanggefäß eingesetzt und die Probe wurde in das obere Reservoir der Filtersäule pipettiert. Das Auffanggefäß mit Filtersäule wurde für 1 min bei 6000  $\times$  g in einer Standard-Tischzentrifuge zentrifugiert. Der Durchlauf wurde verworfen und die Filtersäule wurde wieder in das bereits benutzte Auffangröhrchen gesetzt. Dann wurden 500  $\mu$ l Waschpuffer ("Washing buffer") hinzugegeben und für 1 min bei 6000  $\times$  g zentrifugiert. Ein zweites Mal wurden 500  $\mu$ l Waschpuffer ("Washing buffer") hinzugegeben und für 1 min bei 6000  $\times$  g zentrifugiert. Anschließend wurde die Probe ca. 10 s bei max. Geschwindigkeit (13000  $\times$  g) zentrifugiert. Das Auffangröhrchen wurde verworfen und die Filtersäule in ein sauberes 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß eingesetzt. Zum Herauslösen der DNA wurden 100  $\mu$ l des auf 72°C erwärmten Elutionspuffer ("Elution buffer") in die Filtersäule pipettiert und 1 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde das Auffangröhrchen mit der Filtersäule 1 min bei 6000  $\times$  g zentrifugiert. Die DNA-Proben wurden anschließend bei -20°C gelagert.

#### **4.4 Quantitative Bestimmung der Bakterienspezies *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* mittels Real-Time PCR**

Es wurden DNA-Fragmente von parodontopathogenen Leitkeimen amplifiziert. Die Basenabfolge der bakterienspezifischen Primer, die jeweils komplementär zur DNA des zu untersuchenden Leitkeimes war, bestimmte somit den Anfang bzw. das Ende des zu kopierenden Abschnitts. Der Abschnitt, den die Primer flankierten, wurde in jedem Zyklus der Reaktion verdoppelt.

PCR-Zyklen bestehen generell aus drei Zyklen:

1. Hitzedenaturierung der doppelsträngigen DNA bei 94°C, dabei wird die DNA in Einzelstränge aufgespalten
2. Anlagerung der Primer ("Annealing") an die DNA-Einzelstränge bei einer primerspezifischen Temperatur
3. Synthese des komplementären DNA-Stranges (Extension) bei der optimalen Arbeitstemperatur der Taq-DNA-Polymerase (72°C)

Den Zyklen wird eine fünfminütige Denaturierung vorangestellt, um sicherzustellen, dass die gesamte eingesetzte DNA in einzelsträngiger Form vorliegt. In dem sich anschließenden "Touchdown" wird sich der Annealingtemperatur von einer hohen Temperatur ausgehend angenähert und anfangs werden dabei nur wenige Amplifikate gebildet. Diese Methode soll bewirken, dass die Primer in den ersten Runden mit der höchsten Spezifität binden und weniger Nebenprodukte durch Fehlanlagerung entstehen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Real-Time PCR durchgeführt, bei der der Farbstoff "SYBR Green I" eingesetzt wurde (Sakamoto et al. 2000, Maeda et al. 2003, Morillo et al. 2003). Das Fluoreszenzsignal des Farbstoffes ist im ungebundenen Zustand relativ niedrig. Während des Vervielfältigungsprozesses wird dieser Farbstoff an die doppelsträngige DNA-Zielsequenz gebunden. Gebunden an die amplifizierten DNA-Fragmente kommt es zu einem signifikanten Anstieg des Fluoreszenzsignals. Das dabei vermehrt freigesetzte Fluoreszenzsignal wird durch automatische Laserdetektion des Real-Time Gerätes gemessen. Wenn Standards mit entsprechenden Konzentrationen die Real-Time PCR durchlaufen, wird über eine lineare Regressionsanalyse eine Standardkurve erstellt, mit der die Konzentrationen unbekannter Proben bestimmt werden kann. Die Fluoreszenz-Daten werden vom Computer während eines Amplifikationszyklus gesammelt und in grafischer Form aufgezeichnet. Die Intensität des Fluoreszenzsignals steigt direkt proportional mit der Menge an Amplifikat an. Deshalb dient der Farbstoff zur Quantifizierung der Erreger-DNA in den Patientenproben. Das Fluoreszenzsignal ist ein Maß für die Menge der gebildeten DNA.

*Bakterienstämme*

Als Kontrollen dienten die Stämme *P. gingivalis* ATCC 33277, *T. denticola* ATCC 35405 und *T. forsythia* ATCC 43037 in einer Konzentration von  $10^6$  Keimen. Es handelt sich um gut charakterisierte Stämme.

*Primersequenzen*

Primerpaare	Basenposition (Amplifikat-Länge in bp)
-------------	---

*P. gingivalis* (Ashimoto et al. 1996):

Primer I: 5'- AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG -3'	729-1132 (404)
--	----------------

Primer II: 5'- ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT -3'	
--	--

*T. forsythia* (Ashimoto et al. 1996):

Primer I: 5'- GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA -3'	120-760 (641)
--	---------------

Primer II: 5'- TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T -3'	
--	--

*T. denticola* (Ashimoto et al. 1996):

Primer I: 5'- TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T -3'	193-508 (316)
---	---------------

Primer II: 5'- TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA -3'	
--	--

Vor dem Ansatz des Mastermixes sollten die Primerpaare auf eine Konzentration von 10 pmol durch Auflösen in destilliertem Wasser verdünnt werden. Die Primerkonzentration wurde nach folgender Formel berechnet.

$$\frac{\text{OD}_{260} \times 30}{z \times 325} \quad [\mu\text{mol}]$$

Legende:

$\text{OD}_{260}$  = optische Dichte bei einer Wellenlänge von 260 nm

$z$  = Anzahl der Basen

Die Verdünnung war also abhängig von der optischen Dichte und der Anzahl der Basen des Primers. Die Primer wurden mit der entsprechenden Wassermenge jeweils auf eine Konzentration von 100 pmol/μl eingestellt. Zur Anwendung erfolgte im Mastermix eine 1:10 Verdünnung auf eine Endkonzentration von 10 pmol/μl.

Die Primer wurden von Herrn Dipl.-Chem. Dr. rer. nat. Eckhard Birch-Hirschfeld (Institut für Virologie und Antivirale Therapie, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Klinikum) zur Verfügung gestellt. Bei der Real-Time PCR wurden die Primer auf eine Konzentration von jeweils 10 pmol mit destilliertem Wasser verdünnt. Um eine Kontamination der sensiblen Nachweismethode zu vermeiden, wurden für die Verdünnung und das Pipettieren der Real-Time PCR Pipettenspitzen mit Filter verwendet.

### *Mastermix*

Die Reagenzien wurden bei -20°C gelagert. Zum Ansetzen des Mastermixes für die Real-Time PCR wurden die Reagenzien dann vollständig aufgetaut und in einen Reagenzständer auf Eis gestellt.

Beim Ansetzen der "SYBR Green I"-Lösung wurden 1 µl des Fluoreszenzfarbstoffes "SYBR Green I" (10000 × Konzentrat; Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA) mit 499 µl destilliertem Wasser auf 1:500 verdünnt und als Komponente für den Mastermix verwendet. Weitere Bestandteile des Mastermixes waren ein 2 mM dNTP-Mix (MIBI Fermentas, Vilnius, Litauen), Taq-DNA-Polymerase, MgCl<sub>2</sub>-Lösung und PCR Puffer (MIBI Fermentas, Vilnius, Litauen). Um die Amplifikationsreaktion für den Nachweis der drei parodontopathogenen Keime (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) durchzuführen, wurden folgende Reagenzien nach dem Pipettierschema mit den unten aufgeführten Volumina zum Mastermix vermischt (Tab. 1). Aufgrund eines 10%igen Volumenverlustes während der Pipettierschritte des Mastermixes wurde das Volumen des Ansatzes für 36 Proben auf 39 Proben berechnet.

Tab. 1: Pipettierschema des Mastermixes

Reagenz	Endkonzentration	Volumen (µl) einer Probe	Volumen (µl) von 36 Proben
PCR Puffer (10fach)	1 fach	2	78
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2,5 mM	2	78
2 mM dNTP Mix	0,2 mM	2	78
Primer I	0,5 pmol	1	39
Primer II	0,5 pmol	1	39
SYBR Green I (1:500)		1	39
Taq-DNA-Polymerase	1U/µl	1	39
Destilliertes Wasser	-	8	312
<b>Endvolumen</b>		18	702

Ein Reagenzständer wurde in eine Plastikwanne mit Eis gestellt und mit 36 PCR-Eppendorfreaktionsgefäßen (0,2 ml) aufgefüllt. In den ersten drei Eppendorfreaktionsgefäßen wurden Positivkontrollen angesetzt. Diese stellten eine Verdünnungsreihe (1:1, 1:10, 1:100) dar. Das erste Eppendorfreaktionsgefäß enthielt 18 µl Mastermix und 2 µl DNA aus der Reinkultur der jeweiligen Spezies. Im zweiten Eppendorfreaktionsgefäß wurden 18 µl Mastermix und 2 µl der 1:10 verdünnten DNA pipettiert. Das dritte Reaktionsgefäß enthielt 18 µl Mastermix und 2 µl der 1:100 verdünnten DNA. In dem vierten Eppendorfreaktionsgefäß erfolgte die Negativkontrolle mit destilliertem Wasser. Hierzu wurden 2 µl destilliertes Wasser zu 18 µl Mastermix gegeben. In den restlichen 32 PCR-Eppendorfreaktionsgefäßen (0,2 ml) wurden jeweils 18 µl Mastermix und 2 µl Patienten-DNA zusammenpipettiert und gut durchmischt. Danach wurden die Reaktionsgefäße in den Thermocycler (Rotorgene RG-2000, Corbett Research Mortlake, Australia) gestellt.



*Thermocycler-Programm*

Die PCR wurde mit dem Programm Rotorgene 4.4 (Corbett Research, Mortlake, Australia) durchgeführt. Das PCR-Protokoll zur Amplifizierung der DNA der drei parodontopathogenen Spezies enthielt folgende Temperaturzyklen (Tab. 2):

Tab. 2: Thermocycler-Programm für *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola*

PCR-Bedingungen (insgesamt 45 Zyklen)	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	94°C	5 min
<u>Touchdown PCR (5 Zyklen):</u>		
Denaturierung	94°C	15 s
Anlagerung der Primer (mit Touchdown in den ersten fünf Zyklen)	65°C (-1°C/Zyklus)	20 s
Polymerisation	72°C	20 s
<u>PCR (40 Zyklen):</u>		
Denaturierung	94°C	15 s
Anlagerung der Primer	60°C	20 s
Polymerisation	72°C	20 s

*Berechnung der Annealingtemperaturen bei der Real-Time PCR für P. gingivalis, T. forsythia und T. denticola*

Die Annealingtemperaturen ( $T_A$ ) richteten sich nach den Primern in der Real-Time PCR. Die Schmelztemperaturen ( $T_m$ ) für die Primer berechneten sich nährungsweise nach folgender Formel:

$$T_m = [4^\circ\text{C} \times (\text{C}+\text{G}) + 2^\circ\text{C} \times (\text{A}+\text{T})]$$

$T_m$  entsprach dabei der maximalen Schmelztemperatur, die sich aus der Summe der Anzahl der einzelnen Basen im Primer ergab, die dann mit einem spezifischen Faktor multipliziert wurden. Die Schmelztemperatur gibt die Temperatur an, bei der 50% des Primers nicht mehr an die Ausgangs-DNA bindet. Für die Anlagerung der Primer wurde die Annealingtemperatur daher bis zu 5°C niedriger als die Schmelztemperatur angesetzt (Mülhardt 2002). Die Annealingtemperatur ( $T_A$ ) betrug bei der Real-Time PCR für *P. gingivalis*, *T. forsythia* und für *T. denticola* 60°C.

#### 4.5 Optimierung der Real-Time PCR zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans*

Bevor Patientenproben mittels Real-Time PCR auf den Erreger *A. actinomycetemcomitans* getestet werden konnten, galt es den Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* zu optimieren. Hierzu wurden vier Primerpaare zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* getestet (Tab. 3). Damit die Ergebnisse der Real-Time PCR quantitativ ausgewertet werden konnten, sollten die optimalen PCR-Bedingungen, und zwar das Primerpaar sowie die Annealingtemperatur der Primer, ermittelt werden. Diese Bedingungen sollten die Amplifikation der spezifischen Sequenzen sowie eine hohe quantitative Ausbeute garantieren.

Tab. 3: *A. actinomycetemcomitans*-Primerpaare für die Real-Time PCR

Referenz	Primer	Basensequenz (5'-3')
1. Ashimoto et al. 1996, herkömmlich Ashimoto et al. 1996, herkömmlich	Forward	AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC
	Reverse	ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT
2. Ashimoto et al. 1996, herkömmlich Ashimoto et al. 1996, modifiziert	Forward	AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC
	Reverse	ATA GCA TGC CAA CTT GAC GT
3. Tran und Rudney 1996 (R <sub>1</sub> )	Forward	ATT GGG GTT TAG CCC TGG TG
	Reverse	AGG CAC AAA CCC ATC TCT GA
4. Tran und Rudney 1996 (R <sub>2</sub> )	Forward	ATT GGG GTT TAG CCC TGG TG
	Reverse	ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC

Jedes der vier Primerpaare durchlief eine Test-PCR mit 20 Proben. Für einen Ansatz mit 20 Proben wurden in jedes 0,2 ml Reaktionsgefäß 18 µl des Mastermixes und 2 µl der DNA Probe pipettiert. Als DNA-Proben wurden Proben der Stämme *A. actinomycetemcomitans* Y4 und ATCC 33384 verwendet (Abb. 2). So wurde in das erste Röhrchen der *A. actinomycetemcomitans* Stamm Y4, in das zweite und dritte Röhrchen wurde der Stamm Y4 in einer Verdünnung von 1:10 bzw. 1:100 pipettiert. Als Negativkontrolle im vierten Probenröhrchen wurde destilliertes Wasser verwendet. In den Eppendorfreaktionsgefäßen 5-7 wurden der Bakterienstamm ATCC 33384 entsprechend angesetzt. Die restlichen 13 Proben stellten Patientenproben mit bekanntem Ergebnis im mikrobiologischen Nachweisverfahren für *A. actinomycetemcomitans* dar.

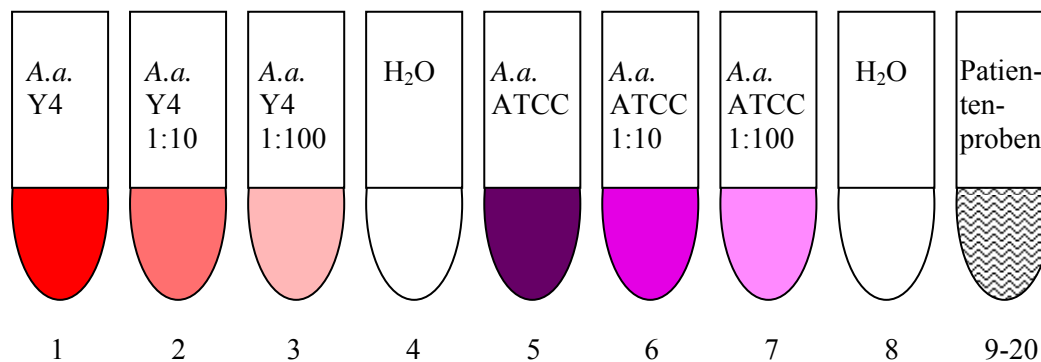


Abb. 2: Schematische Darstellung der Test-PCR zur Optimierung des Nachweises von *A. actinomycetemcomitans*

#### Annealingtemperatur bei der Real-Time PCR für die vier unterschiedlichen

##### *A. actinomycetemcomitans*-Primerpaare:

Zur Berechnung der Annealingtemperatur der vier unterschiedlichen *A. actinomycetemcomitans*-Primerpaare wurde die angegebene Formel (Abschnitt 4.4) verwendet. Die optimalen Annealingtemperaturen für die einzelnen untersuchten Keime ergaben sich aus der Basenzusammensetzung der Primer. Die Annealingtemperatur betrug für das herkömmliche Primerpaar nach Ashimoto 55°C, für das modifizierte Primerpaar nach Ashimoto 56°C, für das Primerpaar (R<sub>1</sub>) nach Rudney 58°C und für das Primerpaar (R<sub>2</sub>) nach Rudney 60°C.

### Auswahl des Primerpaares zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans*

Vier unterschiedliche Methoden zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* wurden in der Real-Time PCR getestet. Die Methoden unterschieden sich hinsichtlich des ausgewählten Primerpaares und der PCR-Bedingungen.

Tab. 4: Ergebnisse der Test-PCR zur Optimierung des Nachweises von *A. actinomycetemcomitans*

Nr.	Inhalt	Primerpaare			
		Ashimoto, herkömmlich	Ashimoto, modifiziert	Rudney (R <sub>1</sub> )	Rudney (R <sub>2</sub> )
1	Y4	2	410	1.425.182	978.990
2	Y4 (1:10)	*	9.563	142.102	104.222
3	Y4 (1:100)	*	355.213	156.832	9.801
4	dest. H <sub>2</sub> O	2	780	16	239
5	ATCC	329.145	1.075.614	1.170.038	471.509
6	ATCC (1:10)	309.799	34.612	63.762	6.134
7	ATCC (1:100)	9.807	26.861	13.404	*

Legende: \* = Probe nicht luftdicht verschlossen

Die Werte in der Tabelle geben die spezifischen Konzentrationen der einzelnen Proben im Verhältnis zu bekannten Konzentrationen der Verdünnungsreihe, Positivkontrollen und Negativkontrollen wieder. Die Werte für die Konzentrationen wurden am Schwellenwert-Niveau ermittelt, dort wo die Amplifikationsrate während der Exponentialphase am größten war.

Das herkömmliche Primerpaar nach Ashimoto erzielte ausschließlich beim Bakterienstamm ATCC 33384 eine Vermehrung der DNA. Hingegen konnte mit diesem herkömmlichen Primerpaar die DNA des Bakterienstamm Y4 und der Patientenproben nicht amplifiziert werden (Tab. 4). Das modifizierte Primerpaar nach Ashimoto erbrachte eine DNA-Amplifizierung bei den Bakterienstämmen Y4 und ATCC 33384. Allerdings führte es nur bei zwei von 13 Patientenproben zu einer DNA-Vervielfältigung. Die beiden Primerpaare nach Rudney mit höheren Annealingtemperaturen zeigten sowohl bei den Bakterienstämmen als auch bei den Patientenproben Amplifizierungsreaktionen der DNA. Dabei erzielte das Primerpaar (R<sub>1</sub>) nach Rudney im Vergleich zum Primerpaar (R<sub>2</sub>) nach Rudney höhere amplifizierte DNA-Mengen (Tab. 4). Folglich zeigte das Primerpaar (R<sub>1</sub>) nach Rudney mit einer Annealingtemperatur von 58°C die höchste Nachweisempfindlichkeit. Aus diesem Grund wurde diese Methode in der vorliegenden Arbeit für alle weiteren Nachweise für *A. actinomycetemcomitans* verwendet.

#### 4.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des SPSS-Programms für Windows, Version 11.01.

Im Ergebnisteil ist die Keimanzahl pro Probe der jeweiligen vier Leitkeime in Zehnerpotenzen angegeben. Dabei wurden die Keimzahlen wie folgt aufgeführt:

0 bis  $< 10^3$  Keime pro Probe: kein Nachweis,  
 $10^3$  Keime pro Probe,  
 $10^4$  Keime pro Probe,  
 $10^5$  Keime pro Probe,  
 $10^6$  Keime pro Probe,  
 $\geq 10^7$  Keime pro Probe.

Die kritische Nachweisgrenze für das Vorhandensein eines Erregers in relevanten Mengen kann bei  $10^3$  festgelegt werden. Die Signifikanz der Differenzen über den Behandlungszeitraum wurde mit dem Wilcoxon-Test ermittelt. Mit dem Wilcoxon-Test wurden jeweils die Keimzahlen nach 3 (t2), 6 (t3), und 12 (t4) Monaten mit den Erregerzahlen zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung (t1) verglichen. Dabei wurden die Differenzen der Keimanzahl pro Probe im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) zu verschiedenen Entnahmezeitpunkten (t2, t3 oder t4) mit  $*p < 0,05$  = signifikant,  $**p < 0,01$  = hochsignifikant und  $***p < 0,001$  = höchstsignifikant bewertet.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Patienten und Plaqueproben

Bei 47 Probanden, die an einer schweren chronischen Parodontitis erkrankt waren, wurden Proben entnommen. Insgesamt wurden 1.900 subgingivale Plaqueproben zur Bestimmung der Keimzahl der vier Leitkeime gewonnen. Die Patienten wurden auf die drei Behandlungsgruppen verteilt.

20 Patienten sind mit Deep Scaling und Root Planing und Moxifloxacin behandelt worden (Gruppe 1). Bei 17 Probanden wurde eine Deep Scaling- und Root Planing-Therapie mit Doxycyclingabe angewendet (Gruppe 2). Eine dritte Gruppe, mit alleiniger Deep Scaling- und Root Planing-Therapie, bestand aus zehn Patienten (Gruppe 3). Von den 47 Teilnehmern der Studie waren 29 weibliche und 18 männliche Patienten. In der Gruppe 1 befanden sich sieben männliche und 13 weibliche Probanden. Die Gruppe 2 bestand aus neun männlichen und acht weiblichen Teilnehmern. Die Gruppe ohne adjunktive Antibiotikatherapie setzte sich aus zwei männlichen und acht weiblichen Patienten zusammen. Die Probanden waren im Alter von 27 bis 68 Jahren. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 47 Jahre. Insgesamt nahmen nach eigenen Angaben 20 Raucher an der Studie teil. Acht Raucher gehörten der Gruppe 1, acht der Gruppe 2 und vier der Gruppe 3 an. Somit waren 12 Nichtraucher der Gruppe 1, neun der Gruppe 2 sowie sechs der Gruppe 3 zugeordnet.

## 5.2 Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime bei chronischer Parodontitis vor Parodontalbehandlung

Die Häufigkeitsverteilung der vier parodontopathogenen Keime (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) bei chronischer Parodontitis wurde vor der Parodontalbehandlung in der Basisuntersuchung bestimmt.

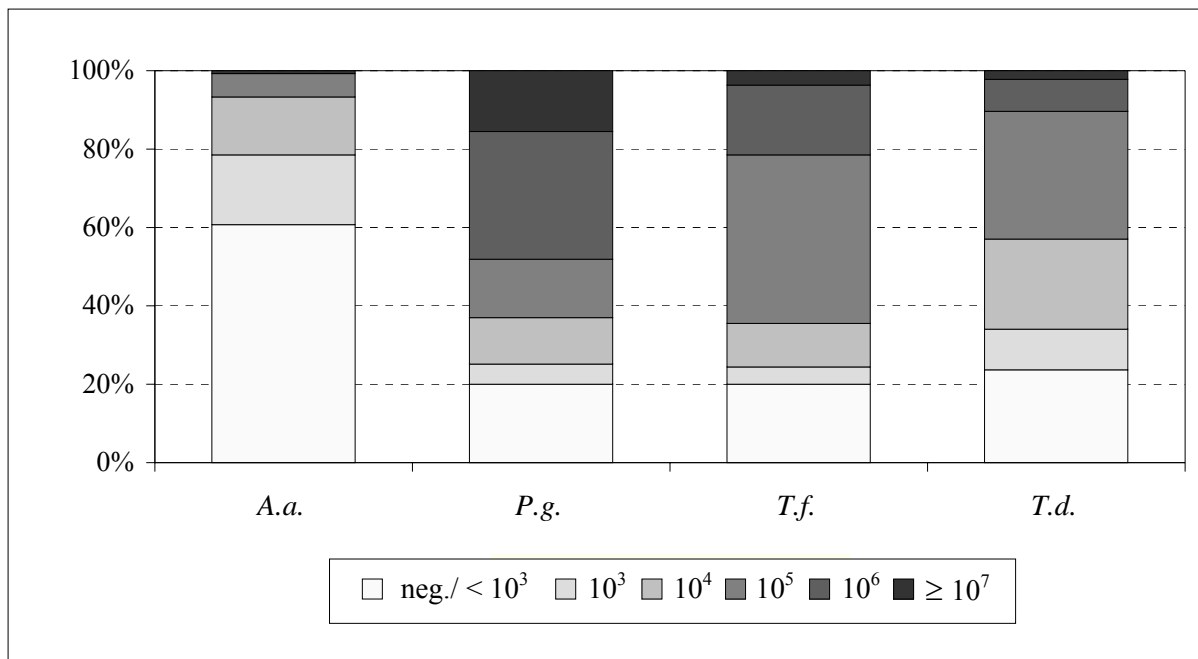


Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung (t1) vor Parodontalbehandlung

A.a. = *A. actinomycetemcomitans*, P.g. = *P. gingivalis*, T.f. = *T. forsythia*, T.d. = *T. denticola*

Vor der Behandlung war *A. actinomycetemcomitans* bei etwa 60% der Entnahmestellen nicht detektierbar und bei 40% nachweisbar. Eine Keimanzahl von  $10^3$  Keimen pro Probe lag bei etwa 18% und eine Keimanzahl von  $10^4$  Keimen pro Probe bei etwa 15% der Entnahmestellen vor. Ein sehr geringer Anteil von 7% entfiel auf eine hohe Keimbelastung von *A. actinomycetemcomitans* von mehr als  $10^5$  Keimen pro Probe. Die übrigen drei Erreger (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) waren jeweils bei etwa 80% der Entnahmestellen nachweisbar und bei den übrigen ca. 20% nicht detektierbar. *P. gingivalis* und *T. forsythia* zeigten in etwa 64% der Proben eine Keimbelastung von mehr als  $10^5$  Keimen pro Probe. Etwa 36% der Entnahmestellen wiesen eine Keimzahl von weniger als  $10^5$  Keimen pro Probe bei *P. gingivalis* und *T. forsythia* auf.

In etwa 43% der Proben kamen Keimbelastungen von mehr als  $10^5$  Keimen pro Probe für den Erreger *T. denticola* vor. Etwa 57% der Entnahmestellen wiesen hingegen Keimzahlen von weniger als  $10^5$  Keimen pro Probe auf (Abb. 3, Tab. 5 im Anhang).

### 5.3 Wirkung der Behandlungen auf die vier parodontopathogenen Bakterien

Um die Wirksamkeit der drei Behandlungsansätze zu vergleichen, wurden zu vier unterschiedlichen Zeitpunkten (Basisuntersuchung = t1, erste Nachkontrolle = t2, zweite Nachkontrolle = t3, dritte Nachkontrolle = t4) Proben entnommen und deren Keimanzahl unter der jeweiligen Therapie bestimmt. In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse für die verschiedenen Therapieansätze separat aufgeführt.

#### 5.3.1 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing mit Moxifloxacin

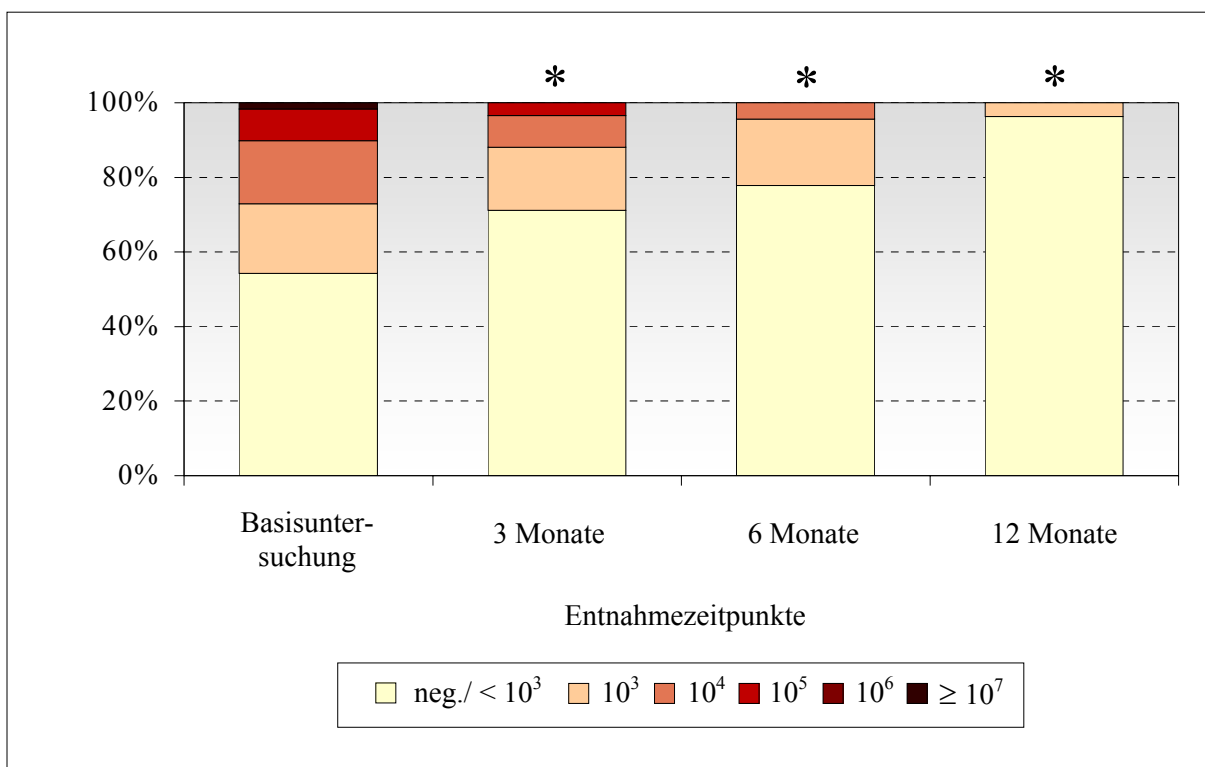


Abb. 4: Wirkung von Moxifloxacin auf *A. actinomycetemcomitans*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Die Gesamtanzahl des Keims *A. actinomycetemcomitans* wurde durch die Deep Scaling- und Root Planing-Therapie mit Moxifloxacingabe stetig verringert. Unter Moxifloxacin kam es zu einer signifikanten Verminderung ( $p < 0,05$ ) von *A. actinomycetemcomitans* zu allen



Nachkontrollen (t2, t3, t4) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). 3 Monate nach Therapie (t2) lag die höchste, nachgewiesene Keimzahl bei  $10^5$  Keimen pro Probe. Im Vergleich zum Ausgangswert waren bei weiteren 15% der Entnahmestellen die Keime unter die Nachweisgrenze zurückgedrängt worden. 6 Monate nach Behandlung (t3) betrug die höchste Keimzahl pro Probe  $10^4$  und bei zusätzlichen 25% der Proben verglichen zur Basisuntersuchung war der Keim nicht mehr nachweisbar. 12 Monate nach Therapie (t4) lag die höchste Keimzahl bei  $10^3$  Keimen pro Probe und 96% der Proben waren negativ in Bezug auf *A. actinomycetemcomitans* (Abb. 4, Tab. 6 im Anhang).

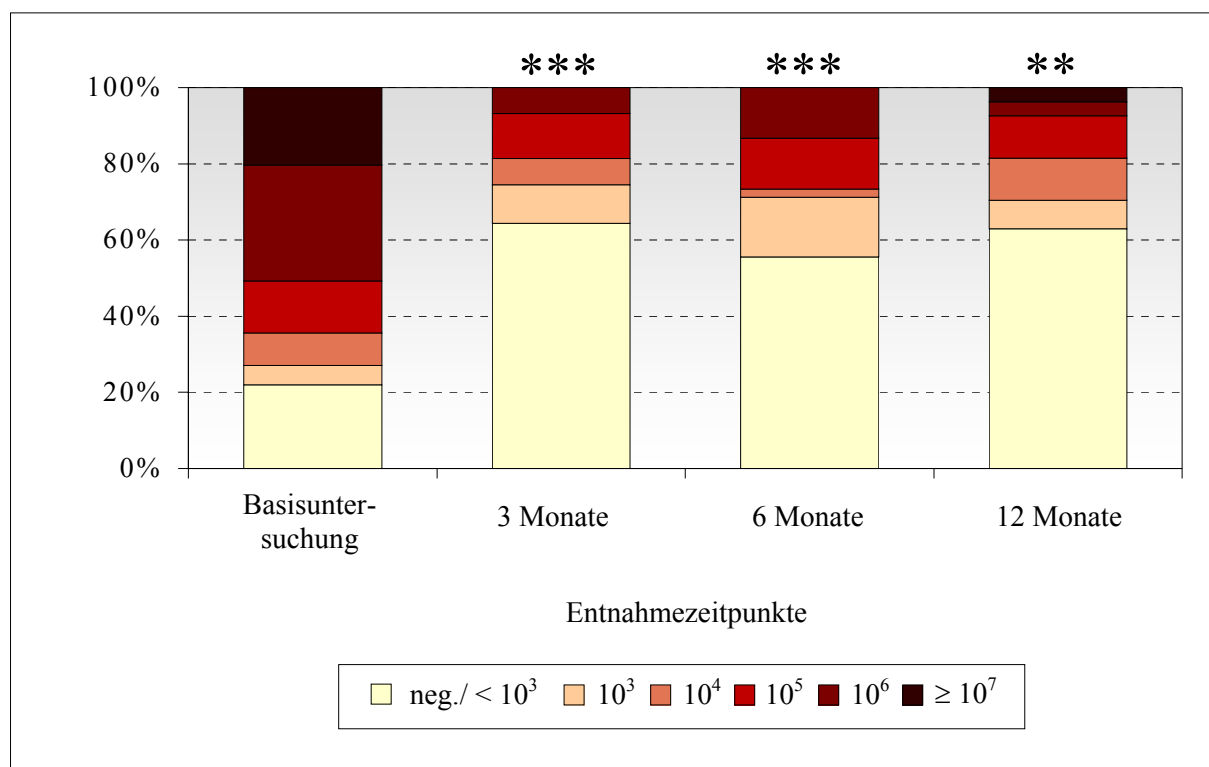


Abb. 5: Wirkung von Moxifloxacin auf *P. gingivalis*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Die Gesamtzahl des Keims *P. gingivalis* wurde durch instrumentelle Parodontalbehandlung und Moxifloxacintherapie reduziert. *P. gingivalis* wurde nach 3 (t2), 6 (t3) und 12 Monaten (t4) signifikant reduziert ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). Nach 3 Monaten (t2) waren bei etwa 42% der Proben im Vergleich zur Basisuntersuchung die Keime eliminiert worden. Die höchste Konzentration von *P. gingivalis* in einer Probe betrug mehr als  $10^6$  Keime. Nach 3 Monaten (t2) und 6 Monaten (t3) waren keine Proben mit der Keimzahl  $\geq 10^7$  nachgewiesen worden.

Nach 12 Monaten (t4) traten wieder Proben mit mehr als  $10^7$  Keimen auf. Die Häufigkeit der Proben mit negativem Keimnachweis blieb am 2., 3. und 4. Entnahmezeitpunkt (t2, t3, t4) mit etwa 60% konstant (Abb. 5, Tab. 7 im Anhang).

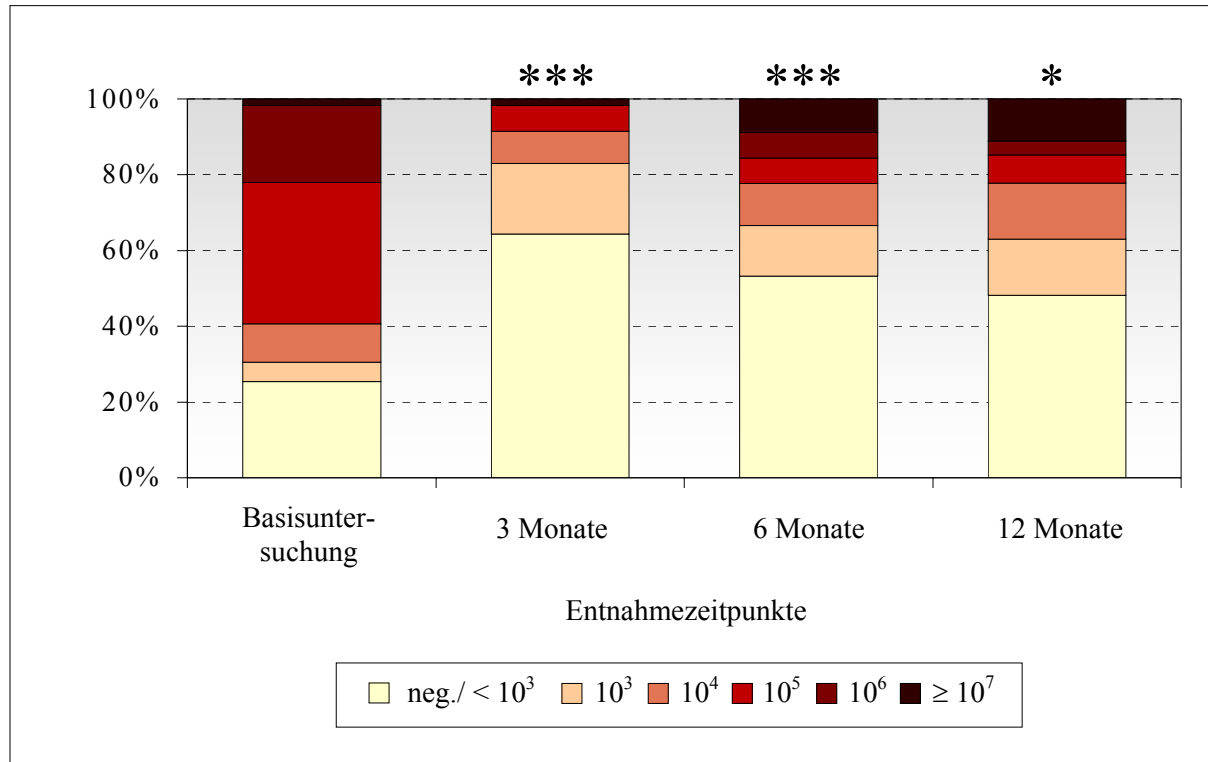


Abb. 6: Wirkung von Moxifloxacin auf *T. forsythia*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Die Initialtherapie mit Moxifloxacin erzielte eine Abnahme von *T. forsythia*. Unter Moxifloxacin kam es zu einer signifikanten Verminderung ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ) von *T. forsythia* zu allen Nachkontrollen (t2, t3, t4) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). 6 Monate nach Deep Scaling und Root Planing in Kombination mit Moxifloxacin war eine leichte Erhöhung der Keime verglichen mit 3 Monaten zu verzeichnen. Nach 12 Monaten kam es zum Anstieg der Besiedlung mit Proben  $\geq 10^7$  Keimen. Im Vergleich zum Ausgangswert von 25% negativen Proben war *T. forsythia* auch nach 12 Monaten bei etwa 50% der Proben nicht mehr nachweisbar (Abb. 6, Tab. 8 im Anhang).

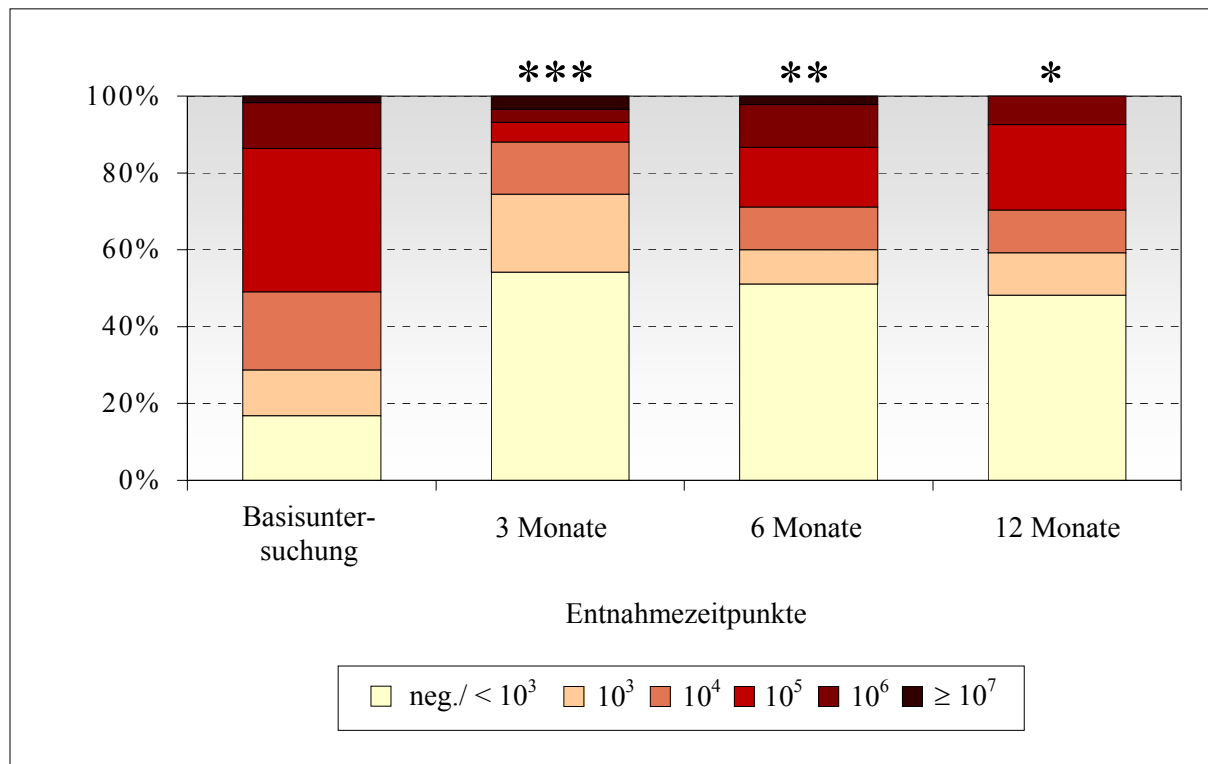


Abb. 7: Wirkung von Moxifloxacin auf *T. denticola*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Bei *T. denticola* war ebenfalls eine deutliche Abnahme der Zahl der Bakterien nach instrumenteller Behandlung und Moxifloxacintherapie ersichtlich. *T. denticola* wurde 3, 6 und 12 Monate (t2, t3, t4) nach instrumenteller Parodontalbehandlung und Moxifloxacintherapie im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) signifikant reduziert ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ). 3, 6 und 12 Monate nach Deep Scaling und Root Planing mit Moxifloxacingabe war *T. denticola* bei etwa 50% der Proben nicht mehr nachweisbar. Die Keimzahl von  $\geq 10^5$  Keime pro Probe betrug nach 6 und 12 Monaten etwa 30%. Nach 12 Monaten wurden Proben mit einer Keimzahl  $\geq 10^7$  Keimen nicht mehr nachgewiesen (Abb. 7, Tab. 9 im Anhang).

### 5.3.2 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing mit Doxycyclin

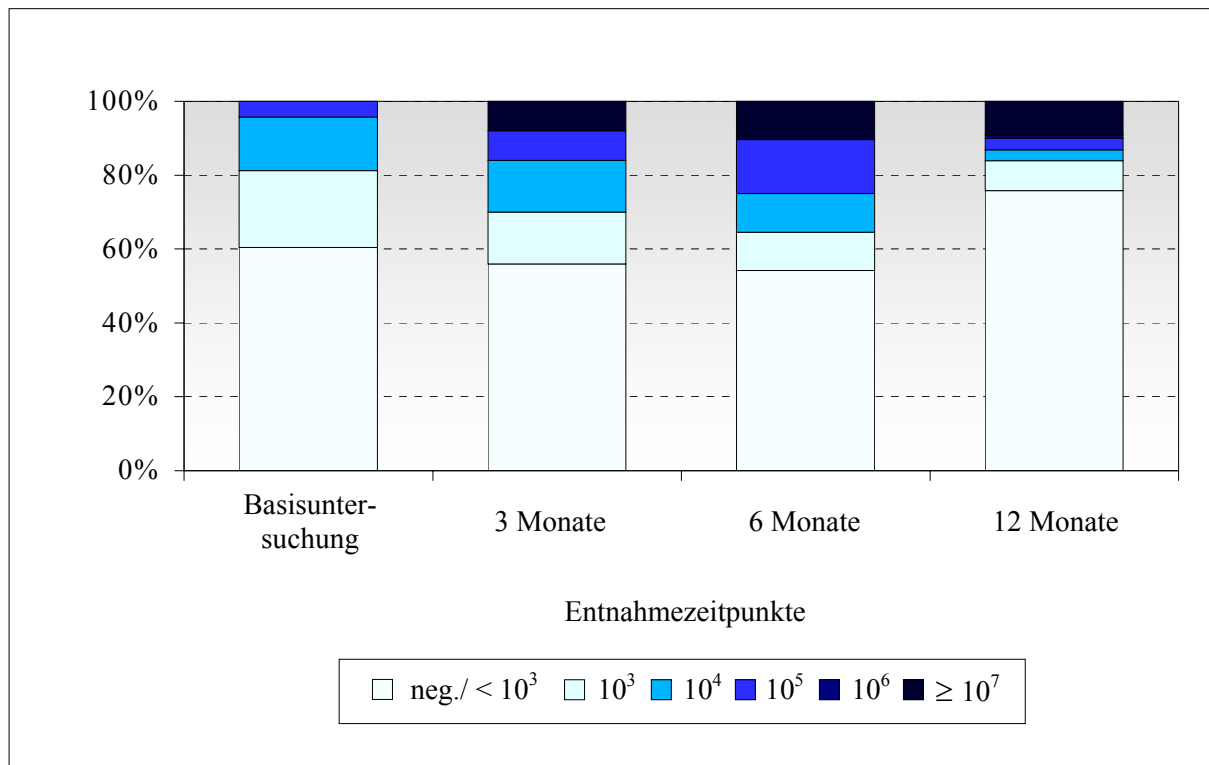


Abb. 8: Wirkung von Doxycyclin auf *A. actinomycetemcomitans*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Die instrumentelle Behandlung in Verbindung mit Doxycyclintherapie hatte keinen reduzierenden Effekt auf *A. actinomycetemcomitans*. Die Therapie mit Doxycyclin führte zu keiner signifikanten Abnahme von *A. actinomycetemcomitans* zu allen Nachkontrollen (t2, t3, t4) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). Im Verlauf der Behandlung kam es zu einem vermehrten Auftreten von Proben mit einer Keimzahl von  $\geq 10^7$  (Abb. 8, Tab. 10 im Anhang).

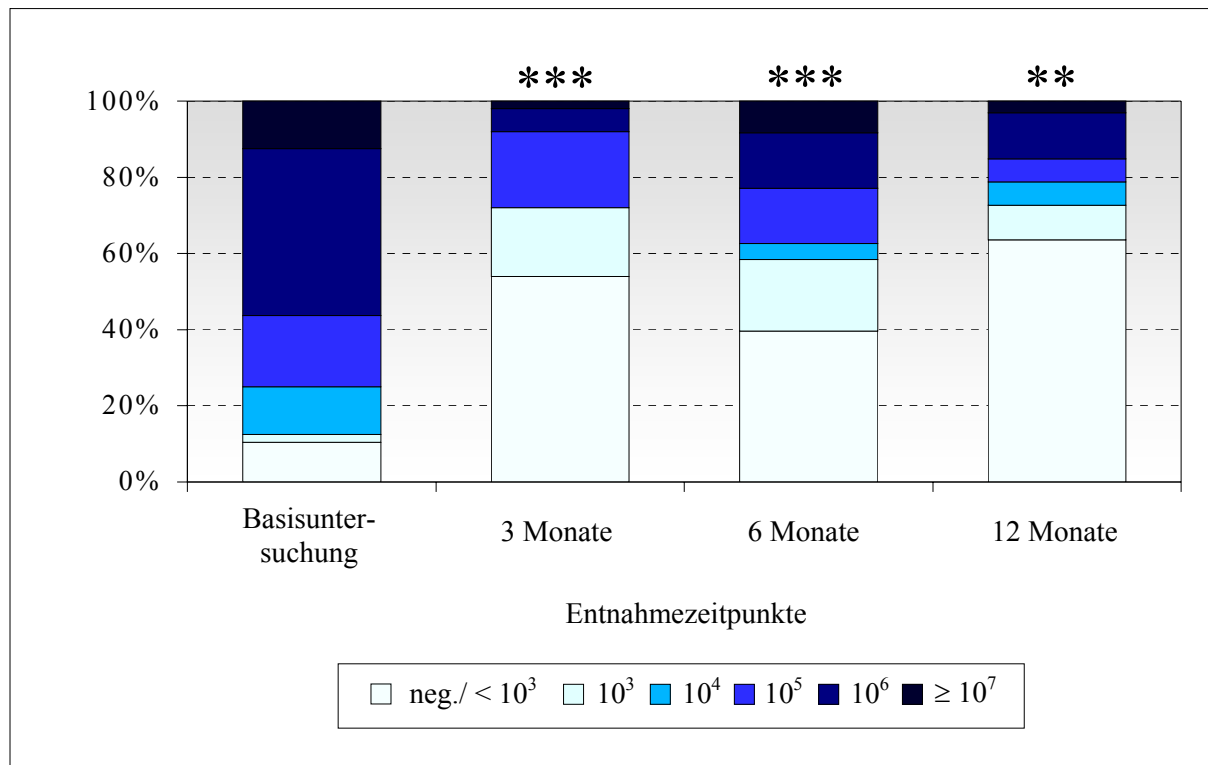


Abb. 9: Wirkung von Doxycyclin auf *P. gingivalis*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Im Verlauf der Behandlung mit Doxycyclin stieg die Zahl der negativen Proben von *P. gingivalis* von 10% auf bis zu 64% an. Eine Abnahme bestand bei der Zahl der Proben mit einer Keimzahl von  $10^6$  nach instrumenteller Therapie mit Doxycyclingabe. Nach 12 Monaten lag eine Keimzahl  $\geq 10^5$  bei etwa 20% der Proben vor. In allen drei Nachkontrollen (t1, t2, t3) kam es zu einer signifikanten Verminderung ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ) von *P. gingivalis* im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) nach Deep Scaling- und Root Planing-Therapie in Kombination mit Doxycyclingabe. Bei einigen Patienten konnte *P. gingivalis* jedoch während des gesamten Behandlungszeitraums in einer Keimzahl von mehr als  $10^7$  nachgewiesen werden (Abb. 9, Tab. 11 im Anhang).

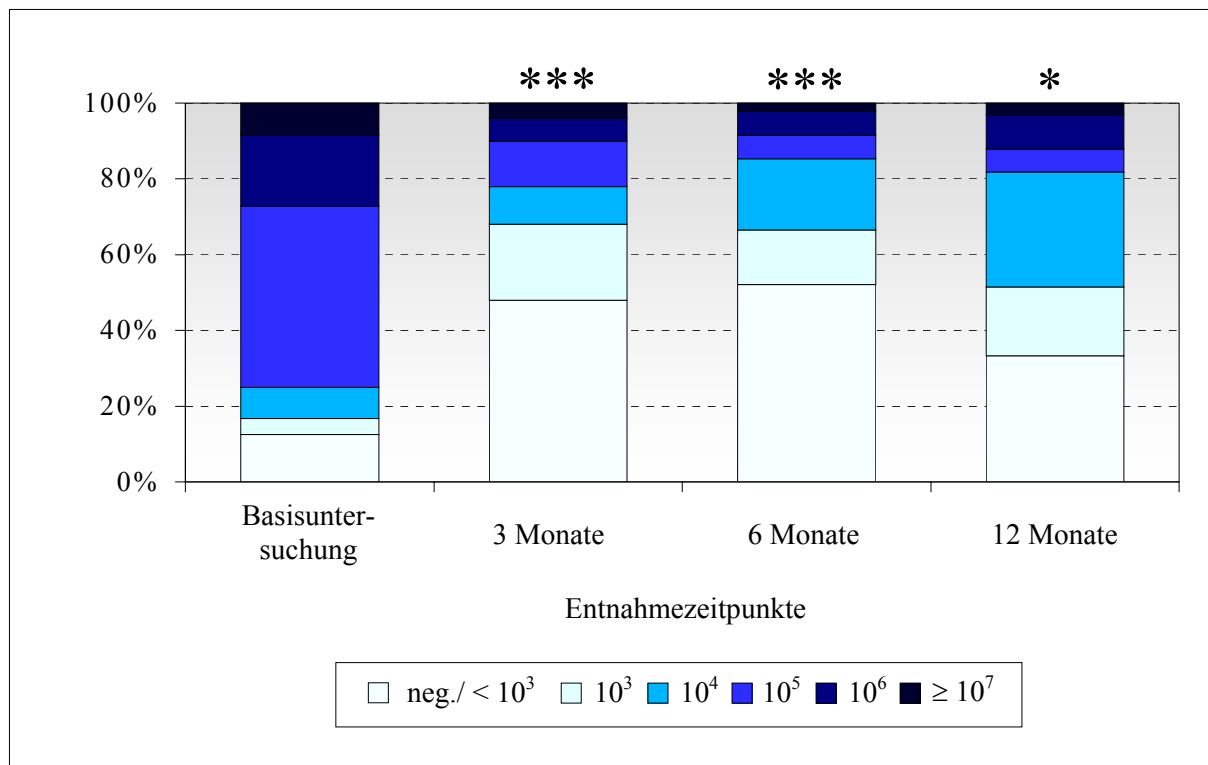


Abb. 10: Wirkung von Doxycyclin auf *T. forsythia*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

*T. forsythia* wurde während der Behandlung mit Doxycyclin bis zum sechsten Monat zunehmend unter die Nachweisgrenze zurückgedrängt. Eine signifikante Verminderung ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ) von *T. forsythia* war nach 3 (t2), 6 (t3) und 12 (t4) Monaten im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) nachzuweisen. Nach der Behandlung wurden Proben mit einer Keimzahl von mehr als  $10^5$  und  $\geq 10^7$  bis zum sechsten Monat verringert nachgewiesen. Die Keimanzahl  $\geq 10^5$  blieb bis zum zwölften Monat um etwa 55% zum Ausgangswert reduziert. Die Keimzahl von mehr als  $10^7$  Keimen pro Probe wurde während des gesamten Behandlungszeitraums nachgewiesen (Abb. 10, Tab. 12 im Anhang).

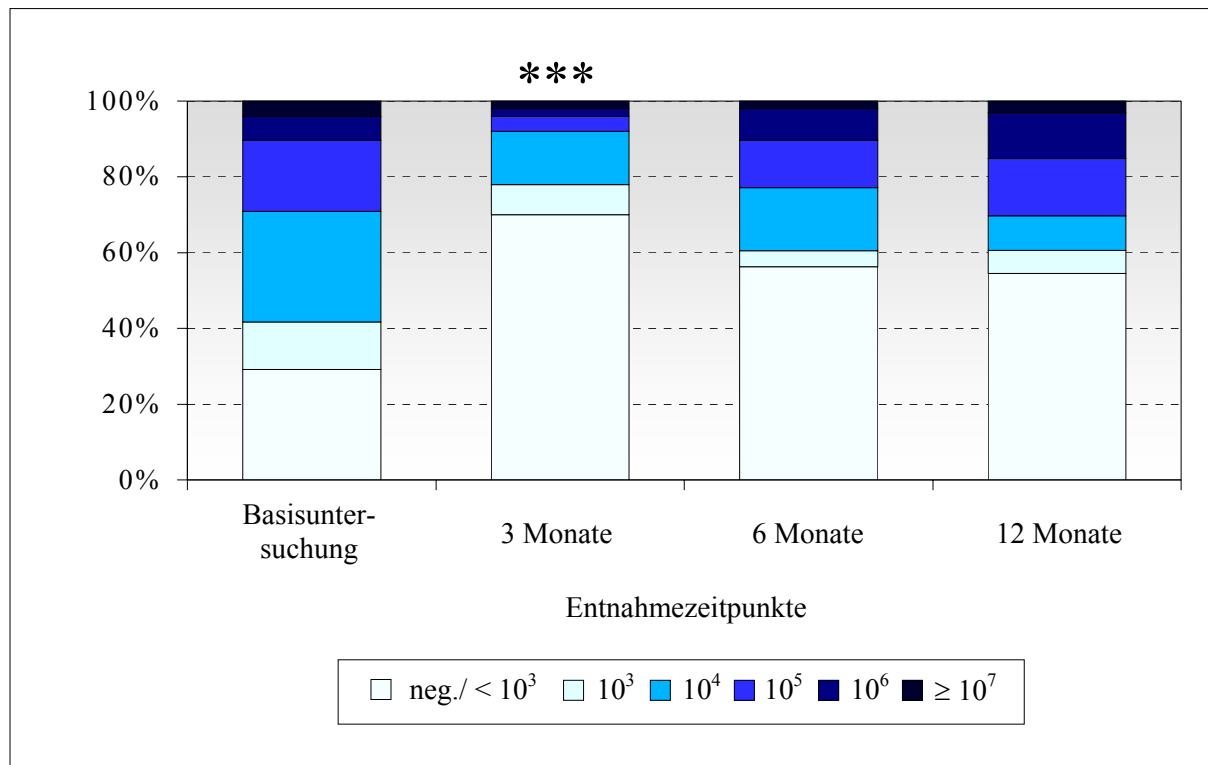


Abb. 11: Wirkung von Doxycyclin auf *T. denticola*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) ( \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001)

*T. denticola* nahm nach Deep Scaling und Root Planing mit Doxycyclin ab. Bei der ersten Nachkontrolle (t2) waren 40% mehr Proben negativ verglichen zum Ausgangswert. Unter Doxycyclin war zunächst in den ersten 3 Monaten eine signifikante Abnahme ( $p < 0,001$ ) von *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) zu verzeichnen. Nach 3 Monaten nahmen die Proben mit einer Keimzahl von  $10^3$ - $10^6$  ab. Die Keimanzahl von  $\geq 10^7$  wurde während des gesamten Behandlungszeitraums diagnostiziert. Nach Abschluss der Behandlung lag die Gesamtzahl positiver Proben von *T. denticola* immer noch unter der des Ausgangswertes. Allerdings waren nach 6 und 12 Monaten (t3, t4) signifikante Verminderungen der Keimzahlen von *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) nicht mehr zu verzeichnen (Abb. 11, Tab. 13 im Anhang).

### 5.3.3 Wirkung von Deep Scaling und Root Planing

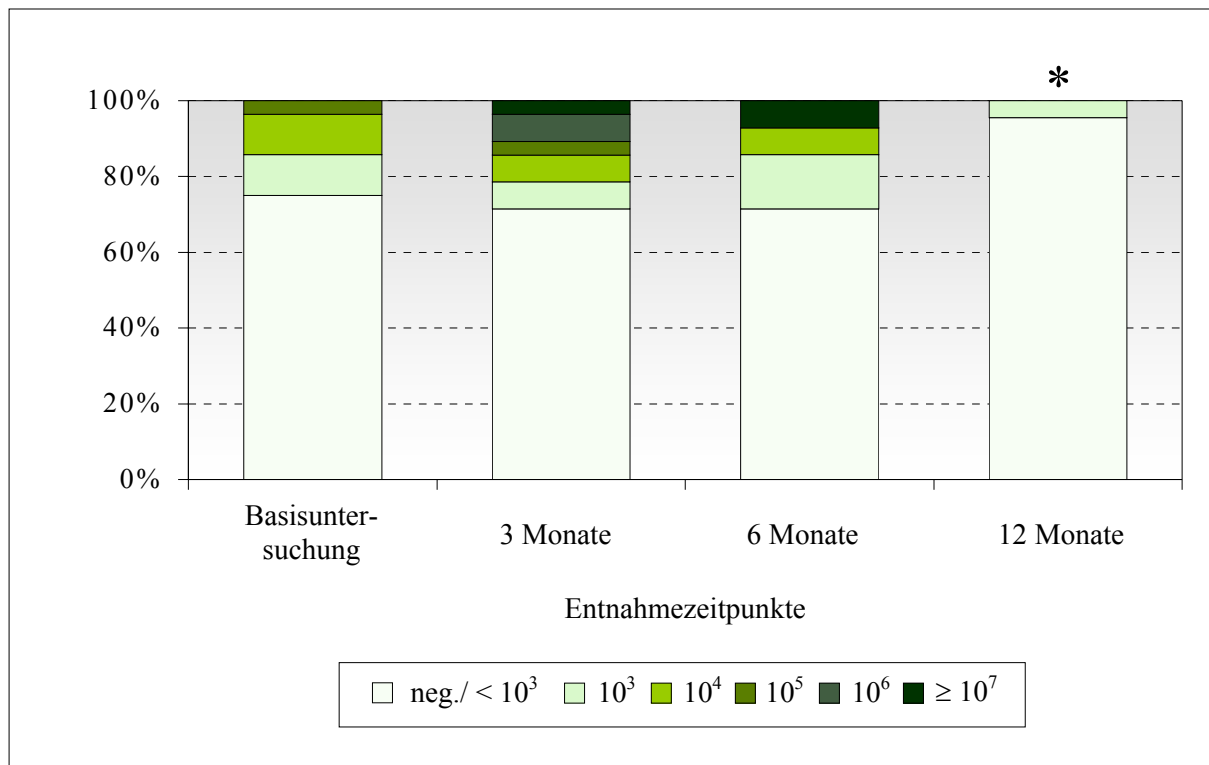


Abb. 12: Wirkung von Deep Scaling und Root Planing auf *A. actinomycetemcomitans*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Direkt nach instrumenteller Therapie kam es nicht zu einer Reduktion von *A. actinomycetemcomitans*. Nach Deep Scaling und Root Planing traten Proben mit einer hohen Keimzahl von  $\geq 10^7$  auf. Nach Abschluss der Behandlung lag die höchste Keimzahl bei  $10^3$ . Am vierten Entnahmezeitpunkt wurde eine signifikante Abnahme ( $p < 0,05$ ) von *A. actinomycetemcomitans* gegenüber dem ersten Entnahmezeitpunkt beobachtet (Abb. 12, Tab. 14 im Anhang).



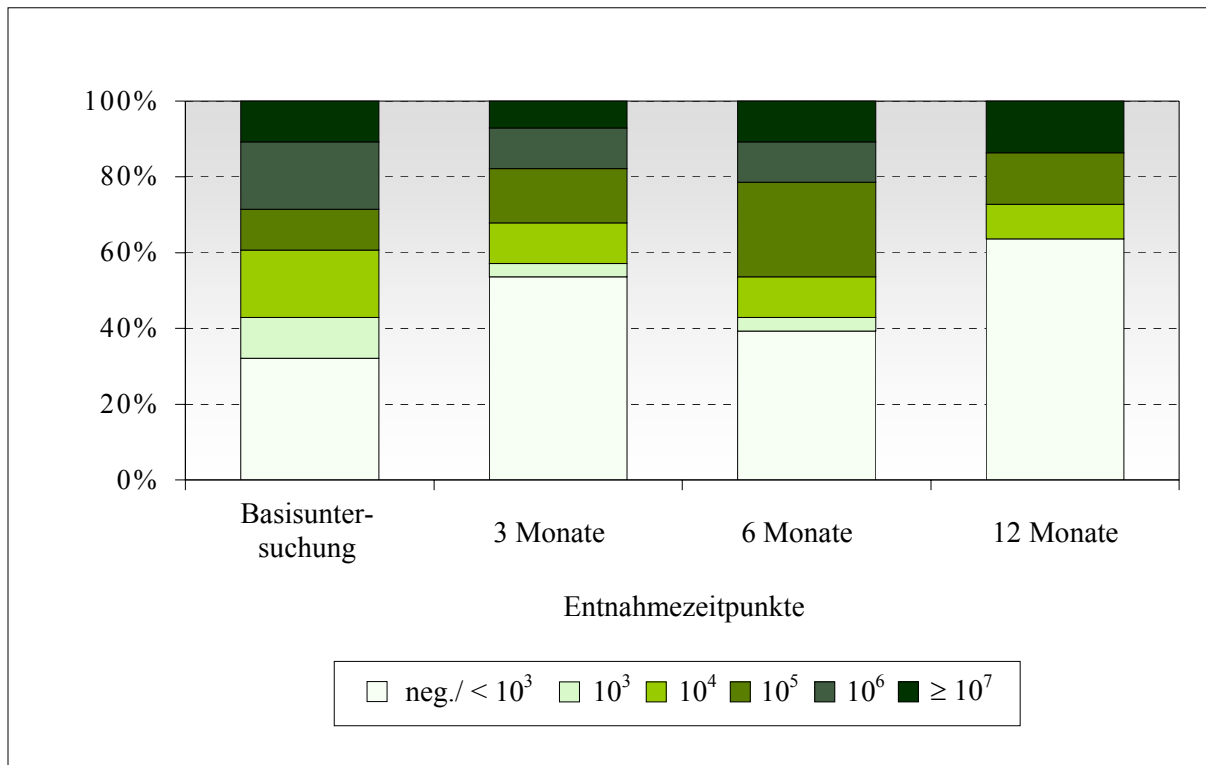


Abb. 13: Wirkung von Deep Scaling und Root Planing auf *P. gingivalis*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Die alleinige instrumentelle Behandlung hatte keinen signifikanten Effekt auf *P. gingivalis* (Abb. 13, Tab. 15 im Anhang).

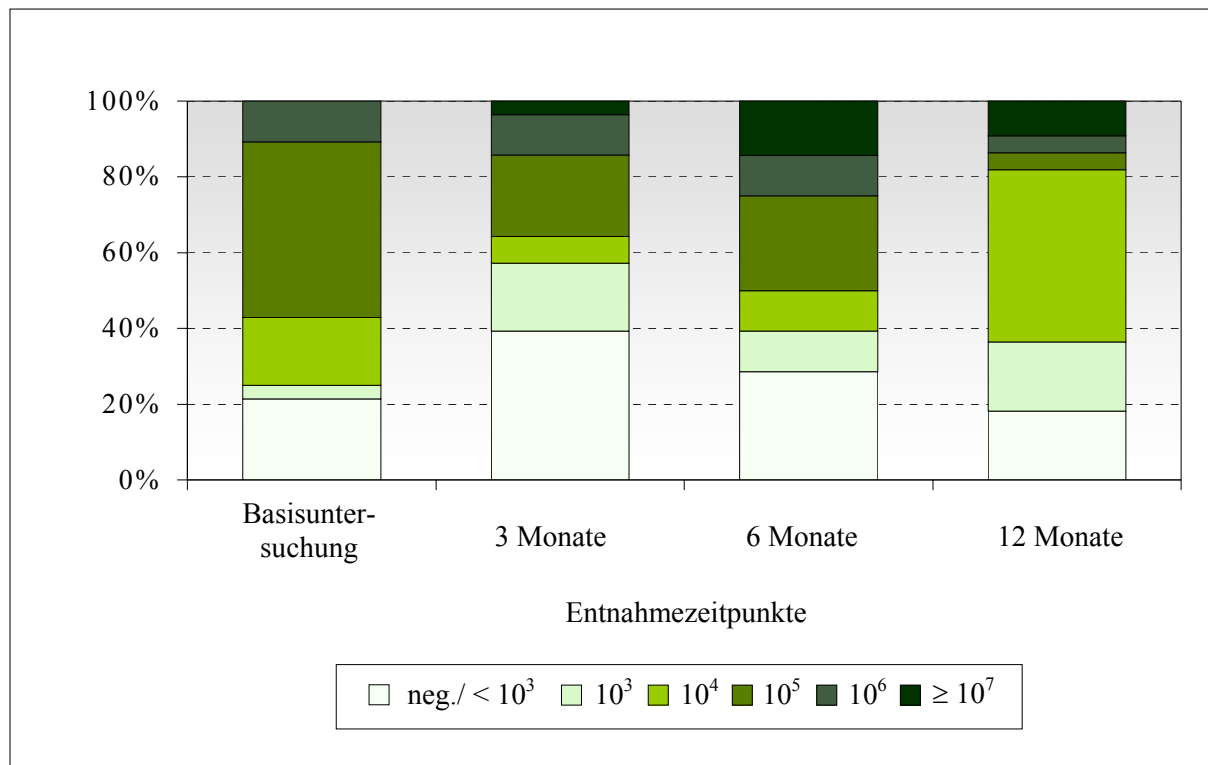


Abb. 14: Wirkung von Deep Scaling und Root Planing auf *T. forsythia*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Nach den ersten drei Monaten nahm die Zahl negativer Proben von *T. forsythia* von 20% auf 40% zu. Im weiteren Verlauf der Behandlung kam es zu einer Zunahme der Keimbelastung mit *T. forsythia*. Das Vorkommen von Proben mit mehr als 10<sup>7</sup> Keimen pro Probe stieg an. Nach 12 Monaten wurden bei etwa 14% der Proben eine Keimbelastung von mehr als 10<sup>6</sup> Keimen pro Probe nachgewiesen. Die alleinige instrumentelle Therapie führte bei *T. forsythia* allerdings zu keinem Zeitpunkt zu einer signifikanten Verminderung im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (Abb. 14, Tab. 16 im Anhang).

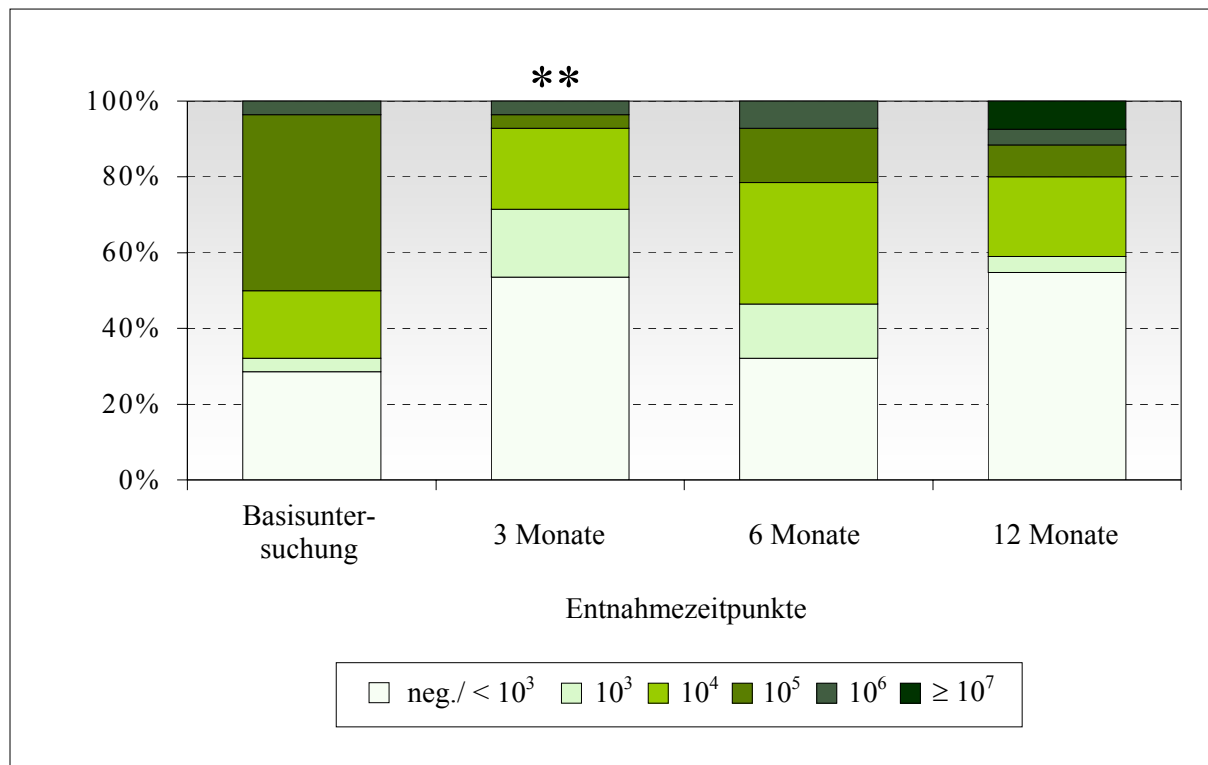


Abb. 15: Wirkung von Deep Scaling und Root Planing auf *T. denticola*

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) ( \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Nach subgingivaler instrumenteller Behandlung stieg die Zahl negativer Proben von *T. denticola* an. Direkt 3 Monate (t2) nach instrumenteller Therapie war eine signifikante Reduktion ( $p < 0,01$ ) von *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) zu verzeichnen. Nach 6 (t3) und 12 (t4) Monaten zeigte die alleinige instrumentelle Therapie keinen signifikanten Effekt mehr auf *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). Bei 8% der Proben trat eine Keimbelastung von mehr als  $10^7$  Keimen pro Probe nach 12 Monaten auf (Abb. 15, Tab. 17 im Anhang).

#### 5.4 Vergleich der Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime bei Nichtrauchern und Rauchern

Die Häufigkeitsverteilung der vier parodontopathogenen Keime (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) bei Nichtrauchern und Rauchern wurde während der Behandlung zu vier Zeitpunkten bestimmt. Der Vergleich zwischen Nichtrauchern und Rauchern erfolgte für die jeweiligen Erreger unabhängig von der Therapie.

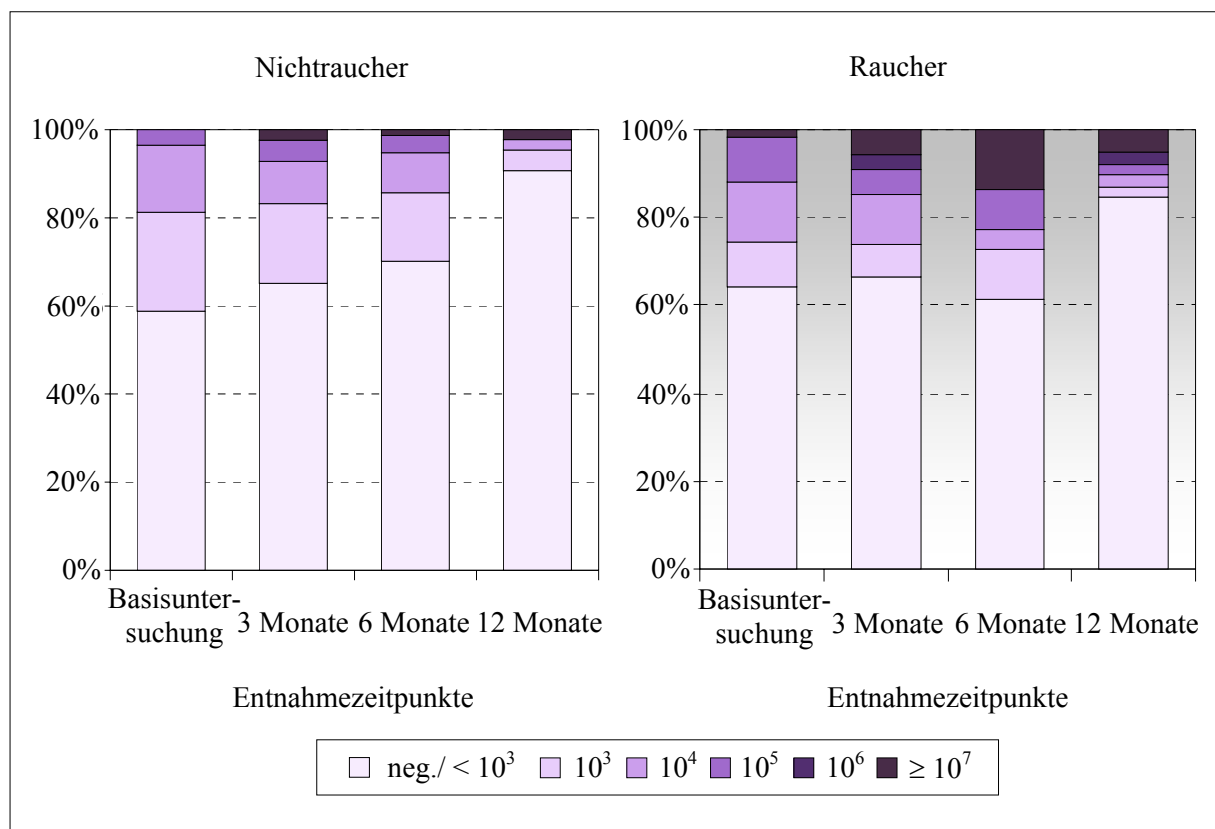


Abb. 16: Vergleich der Verteilung von *A. actinomycetemcomitans* zwischen Nichtrauchern und Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Der grafische Vergleich der Verteilung von *A. actinomycetemcomitans* zeigt, dass Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern zu allen Zeitpunkten mindestens doppelt so viele Proben mit einer Anzahl  $\geq 10^7$  Keimen aufweisen. Zudem waren bei Rauchern zu allen Zeitpunkten mehr Proben mit einer Anzahl  $\geq 10^6$  Keimen vorhanden. Nach 12 Monaten war die prozentuale Anzahl der eliminierten Keime bei Nichtrauchern um etwa 30% und bei Rauchern nur um 20% im Vergleich zum jeweiligen Ausgangswert gesunken.

Die Unterschiede in der Gesamtverteilung von *A. actinomycetemcomitans* zwischen Nichtrauchern und Rauchern waren allerdings zu keinem Zeitpunkt signifikant (Abb. 16, Tab. 18-19 im Anhang).

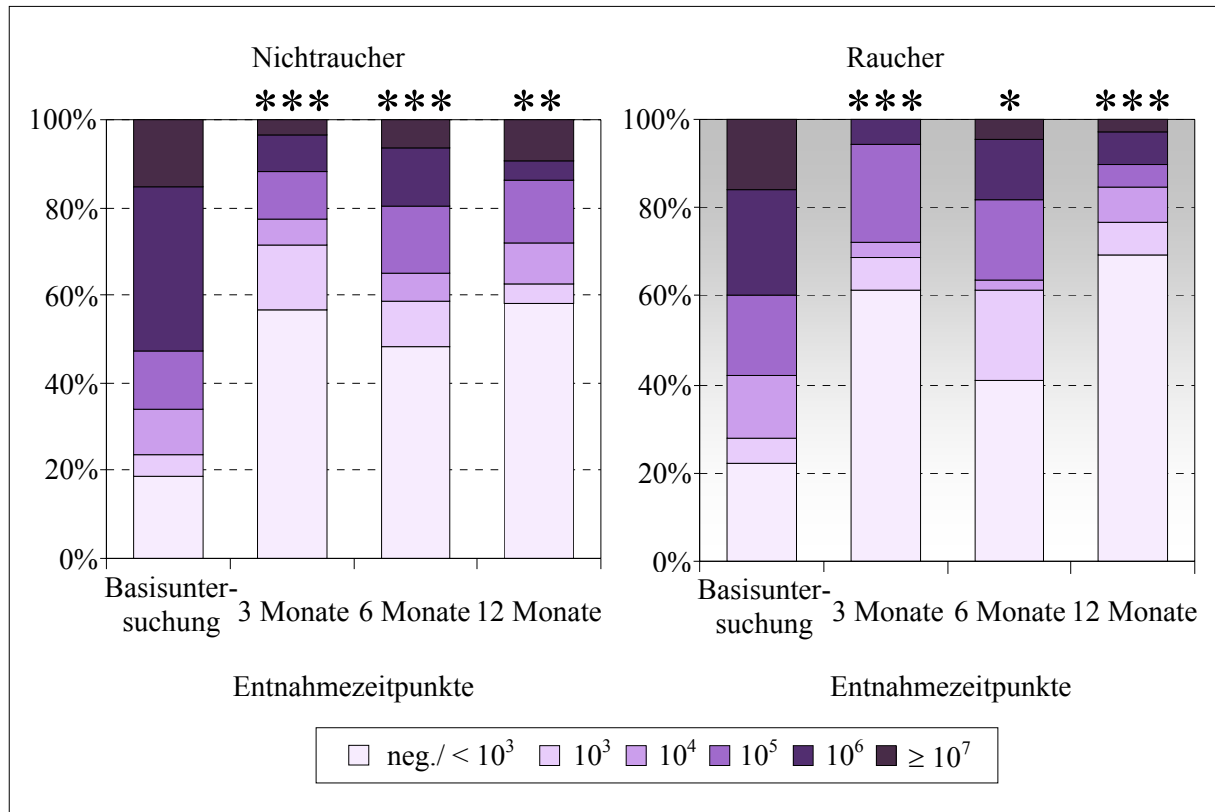


Abb. 17: Vergleich der Verteilung von *P. gingivalis* zwischen Nichtrauchern und Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001)

Der grafische Vergleich der Verteilung von *P. gingivalis* zeigt, dass bei Nichtrauchern insgesamt eine stärkere signifikante Verringerung von *P. gingivalis* zu verzeichnen war als bei Rauchern. Nichtraucher zeigten eine höchstsignifikante Verminderung von *P. gingivalis* nach 6 Monaten (t3) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1), währenddagegen Raucher nur eine signifikante Reduktion dieses Erregers zu diesem Zeitpunkt aufwiesen. Nach 12 Monaten war bei Nichtrauchern eine hochsignifikante Abnahme und bei Rauchern eine höchstsignifikante Abnahme zum Entnahmezeitpunkt (t4) im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) nachweisbar (Abb. 17, Tab. 20-21 im Anhang).

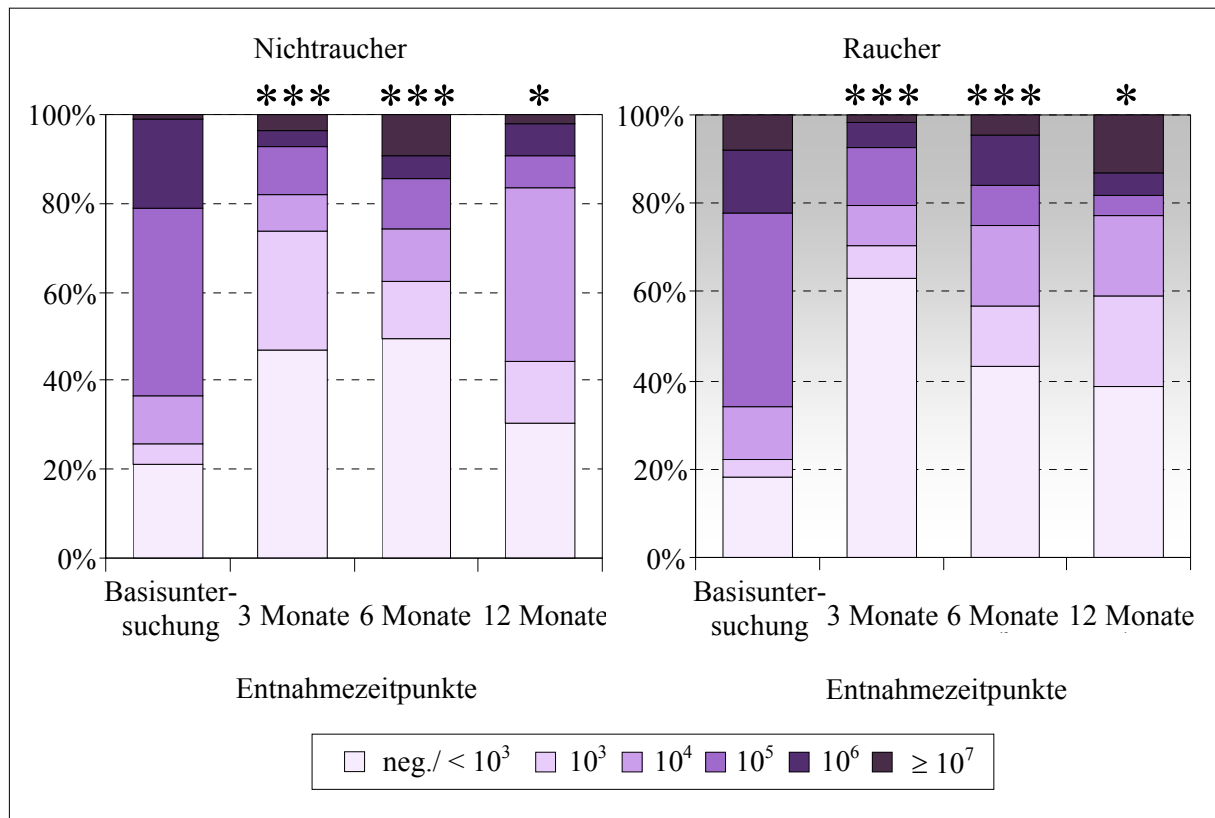


Abb. 18: Vergleich der Verteilung von *T. forsythia* zwischen Nichtrauchern und Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Der Vergleich der verschiedenen Zeitpunkte zwischen Nichtrauchern und Rauchern ergab für *T. forsythia* keine signifikanten Unterschiede (Abb. 18, Tab. 22-23 im Anhang).

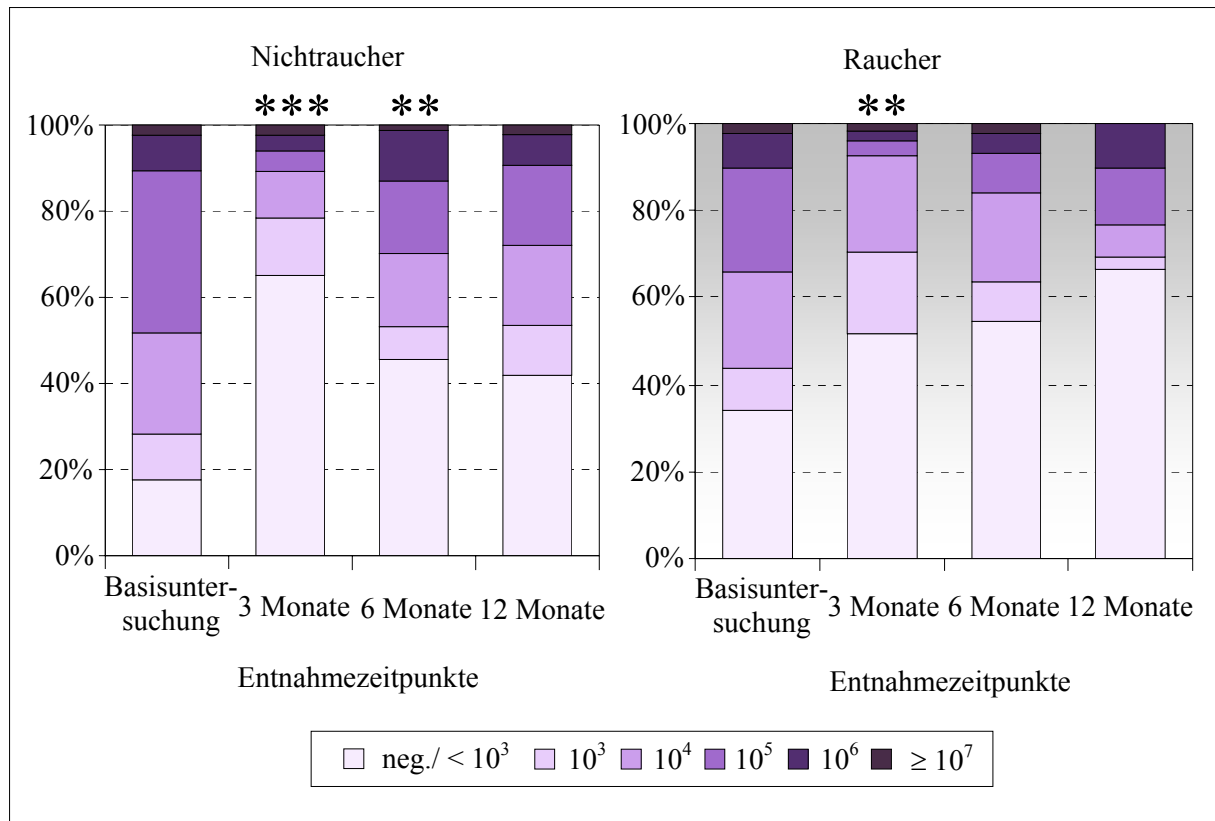


Abb. 19: Vergleich der Verteilung von *T. denticola* zwischen Nichtrauchern und Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Signifikante Unterschiede zwischen Keimzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten jeweils im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

Der Vergleich der Verteilung von *T. denticola* zeigt, dass unabhängig von den drei Behandlungsgruppen bei Nichtrauchern insgesamt eine stärkere signifikante Verringerung von *T. denticola* zu verzeichnen war als bei Rauchern. *T. denticola* verringerte sich bei Nichtrauchern nach 3 Monaten (t2) höchstsignifikant und nach 6 Monaten (t3) hochsignifikant im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). Bei Rauchern wurde *T. denticola* nach 3 Monaten (t2) hochsignifikant reduziert im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1). Zum nachfolgenden Zeitpunkt (t3) war allerdings keine signifikante Abnahme bei Rauchern im Vergleich zur Basisuntersuchung (t1) nachzuweisen (Abb. 19, Tab. 24-25 im Anhang).

## 6 Diskussion

### 6.1 Material

Eine Grundvoraussetzung für die erfolgreiche Durchführung der Methoden war die Qualität des Probenmaterials. Im Rahmen der Studie wurde die Probengewinnung standardisiert. Bei der Probenentnahme wurden Traumatisierungen der Weichgewebe wegen der Gefahr der Plasmakontamination der Proben vermieden. Allerdings wurden die ersten Entnahmen der Plaqueproben vor der Wurzelglättung durchgeführt. Dabei könnten subgingivale Konkrementen das Einführen der sterilen Papierspitze bis in den Taschenfundus erschwert haben (Offenbacher 1996). Dies könnte zu verfälschten Mikroorganismenproben in der Real-Time PCR geführt haben. Ein solcher Effekt hätte allerdings die Ergebnisse bei allen drei Behandlungsgruppen gleichermaßen beeinflusst.

Der Transport der Proben war ebenfalls standardisiert. Nach Entnahme wurden die Proben nur kurzzeitig der Raumtemperatur ausgesetzt, gekühlt transportiert und anschließend bei -20°C gelagert.

### 6.2 Real-Time PCR

Der Amplifikationsvorgang der Real-Time PCR wies eine gute Empfindlichkeit zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* und *T. forsythia* auf. Die Keimanzahl in Zehnerpotenzen anzugeben ist in der Mikrobiologie üblich. Eine eindeutige Keimreduktion liegt erst ab einem Unterschied von einer dekadischen Logarithmusstufe vor. Die kritische Nachweisgrenze für das Vorhandensein eines Erregers in relevanten Mengen kann bei  $10^3$  festgelegt werden (Eick und Pfister 2002a). Bei der mikrobiologischen Auswertung zeigte die Real-Time PCR eine gute Detektionsschwelle bei der Identifizierung geringer und großer bakterieller DNA-Mengen ( $10^3$ - $10^7$  Keime pro Probe) der vier Markerkeime. Auch von anderen Autoren wurde die Real-Time PCR zum effizienten Nachweis von *P. gingivalis* (Lyons et al. 2000, Sakamoto et al. 2000, Boutaga et al. 2003, Morillo et al. 2003), *A. actinomycetemcomitans* (Sakamoto et al. 2000, Morillo et al. 2003), *T. forsythia* (Sakamoto et al. 2000) und *T. denticola* (Sakamoto et al. 2000, Asai et al. 2002, Yoshida et al. 2004) eingesetzt.



Zu Beginn war eine Optimierung der Real-Time PCR für *A. actinomycetemcomitans* erforderlich. Vier unterschiedliche Methoden zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* wurden in der Real-Time PCR getestet. Die Methoden unterschieden sich hinsichtlich des ausgewählten Primerpaares und der PCR-Bedingungen. Alle Quantifizierungsdaten der vier Real-Time PCR-Ansätze wurden ausgewertet. Die Kinetik wurde vom ersten bis letzten Zyklus der PCR miteinbezogen. Nach den Ergebnissen der vier Ansätze der Real-Time PCR wurde das Primerpaar ausgewählt, das die größtmögliche DNA-Vervielfältigung und effizienteste PCR Kinetik bei gleichzeitig geringsten Abweichungen aufwies.

Die Amplifizierungsreaktion der Real-Time PCR zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* wurde maßgeblich von der Funktionalität der Primer bestimmt. Als Maß für eine optimale PCR wurde die Menge an amplifizierter DNA herangezogen. Ein Zyklus einer Polymerasekettenreaktion konnte entweder kein Amplifikationsprodukt oder eine Verdopplung der PCR-Produkte hervorbringen. Das optimale Primerpaar zur Verbesserung der Real-Time PCR zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* ließ sich anhand der Menge an amplifizierter DNA in der Real-Time PCR ermitteln. Das Design der Primer nahm somit eine Schlüsselstellung bei der Optimierung der Reaktion ein.

Als wichtige Determinanten der Funktionalität der Primer werden das Purin-Pyrimidin-Verhältnis der Basen, der Grad der Homologie der Zielsequenz, die Annealingtemperatur, die Länge der Primer sowie des zu amplifizierenden PCR Produktes beschrieben (Tichopad et al. 2002). Die Eigenschaften dieser Kriterien waren bei dem Primerpaar nach Rudney (R<sub>1</sub>) am zutreffendsten für den Nachweis von *A. actinomycetemcomitans*. Mit einem Purin-Pyrimidin Verhältnis von etwa 1:1, einer Annealingtemperatur von 58°C und einer Primerlänge von jeweils 20 bp lieferte das Primerpaar von Rudney (R<sub>1</sub>) bei der Optimierung der Real-Time PCR zum Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* die besten und stabilsten Amplifikationsergebnisse. Unterschiedliche Serotypen wie Y4, ATCC 33384 und Patientenproben, die *A. actinomycetemcomitans* beinhalten, konnten mit dieser Methode nachgewiesen werden.

Weitere wesentliche Faktoren für eine optimale Real-Time PCR waren die Komponenten des Mastermixes. Die Konzentrationen und Mengen der Bestandteile sowie ein exaktes Ansetzen des Mastermixes nahmen eine bedeutende Stellung ein. Für eine optimale Amplifikationsreaktion war daher die Konzentration der eingesetzten Primer von Bedeutung.

Zu hohe Primerkonzentrationen hätten die Entstehung von Primer-Dimeren zur Folge gehabt. Des Weiteren waren die Einstellungen der Temperaturen und Zeiten im Thermocycler-Programm der Real-Time PCR für den optimalen Ablauf der PCR von Bedeutung.

Der verwendete Fluoreszenzfarbstoff, "SYBR Green I", wurde als Komponente des Mastermixes jedem Reaktionsröhrchen der Real-Time PCR hinzugefügt. "SYBR Green I" bindet an doppelsträngige DNA. Die Real-Time PCR mit "SYBR Green I" ermöglicht eine kontinuierliche Messung der Produkte während der Reaktion. Dies ist eine einfache, schnelle und kostengünstige Methode der Detektion, da der Fluoreszenzfarbstoff nicht die Basenabfolge der sequenzspezifischen Proben und neue Primerpaare benötigt. Die Nachweismethode verfügt über eine hohe Sensitivität und Spezifität zum Nachweis von DNA (Stelzel et al. 2003). Die optimale "SYBR Green I"-Konzentration war hierfür Voraussetzung. Dieses zum Einsatz kommende Färbemittel ist nicht sequenzspezifisch und bindet an jegliche DNA wie z.B. unspezifische und spezifische Primerprodukte. Falsch positive Fluoreszenzsignale können daher generell eine wichtige Fehlerquelle bei der Real-Time PCR sein. Für *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* wurden in dieser Arbeit jedoch Primer und PCR-Bedingungen gewählt, die bereits in anderen Studien erfolgreich angewendet worden waren und deren Spezifität in diesen Vorarbeiten gezeigt wurde (Ashimoto et al. 1996). Auf diese Weise wurde diese Fehlerquelle in der vorliegenden Arbeit minimiert. Eine andere Möglichkeit in der Real-Time PCR ist der Einsatz von "dual labeled probes" - auch TaqMan-Sonde genannt. Diese Sonde ist mit einem Fluoreszenzsignal emittierenden Molekül und einem Fluoreszenz-absorbierenden Molekül ausgestattet. Die Anzahl eines spezifischen Keims an der Gesamtanzahl an Bakterien in einer Plaqueprobe kann mittels TaqMan System bestimmt werden (Lyons et al. 2000). Maeda et al. (2003) stellten allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen der Real-Time PCR mit einer TaqMan-Sonde und "SYBR Green I" in der Spezifität, Quantitätsbestimmung und Empfindlichkeit fest.

Im Vergleich zum Standardnachweis der Keime mittels Anzüchtung auf Kulturmedien ist die PCR-Untersuchung sensitiver gegenüber den parodontopathogenen Bakterien aufgrund der niedrigen Detektionsschwelle (Morillo et al. 2003). Insgesamt zeigt die Real-Time PCR einen hohen Grad an Spezifität und ist eine reproduzierbare und präzise Methode, parodontopathogene Keime zu bestimmen (Sakamoto et al. 2000, Maeda et al. 2003, Morillo et al. 2003, Yoshida et al. 2004).

Lyons et al. (2000) beschrieben die Real-Time PCR mit spezifischen Primern als eine präzise und empfindliche Methode zur genauen quantitativen Bestimmung der Bakterien. Die Real-Time PCR spielt daher eine wichtige Rolle bei Studien zur Ätiologie der chronischen Parodontitis (Lyons et al. 2000).

### 6.3 Häufigkeitsverteilung der vier Leitkeime vor Parodontalbehandlung

Die Verteilung von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* bei chronischer Parodontitis wurde hinsichtlich der Häufigkeit der Keimzahl und der Prävalenz der vier Spezies untersucht. Es ließen sich größere Unterschiede bei der Verteilung zwischen *A. actinomycetemcomitans* und den Keimen des "roten Komplexes" (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) (Socransky et al. 1998) beobachten.

Die Häufigkeit der Anzahl der Keime pro Probe stellte die Keimbelastung in einer Tasche dar, die von  $\leq 10^3$  bis  $\geq 10^7$  gemessen wurde. *A. actinomycetemcomitans* wies im Vergleich zu den Keimen des "roten Komplexes" eine deutlich niedrigere Häufigkeit hoher Keimzahlen pro Probe auf. Die drei Keime, die den "roten Komplex" (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) bilden, waren häufiger als *A. actinomycetemcomitans* vorhanden. *P. gingivalis* zeigte eine hohe Häufigkeit einer großen Anzahl von Keimen pro Probe, gefolgt von *T. forsythia* und *T. denticola*.

Die Prävalenz eines Keimes gab Aufschluss über den Anteil der Taschen, die mit diesem Keim besiedelt waren. In der vorliegenden Arbeit war *A. actinomycetemcomitans* bei 40% der Proben nachweisbar. Eine ähnliche Prävalenz von etwa 40% wurde auch von anderen Autoren für das Vorliegen von *A. actinomycetemcomitans* beschrieben (Mombelli et al. 1994, Jepsen et al. 2004). *A. actinomycetemcomitans* war in der vorliegenden Arbeit bei 7% der Proben in einer Keimzahl  $\geq 10^5$  detektiert worden. Das Vorkommen dieses Erregers ist von Bedeutung, da er häufiger mit aggressiver Parodontitis assoziiert ist (Mombelli et al. 1994, Listgarten und Lai 1999, Haraszthy et al. 2000, Beikler et al. 2004). Die Häufigkeit der Erreger des "roten Komplexes" (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) war deutlich erhöht gegenüber der Häufigkeit von *A. actinomycetemcomitans*. Etwa 80% der Proben wiesen relevante Keimzahlen ( $\geq 10^3$ ) der Erreger *P. gingivalis* und *T. forsythia* auf. Während relevante Keimzahlen von *T. denticola* in etwa 76% der Fälle vorkamen. *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* werden auch von anderen Autoren als die drei Hauptkeime der chronischen

Parodontitis bezeichnet (Nguyen et al. 2004, Bodet et al. 2005). Allerdings unterscheidet sich die Verteilung der vier Bakterien bei chronischen Parodontitispatienten nach der geografischen Region (Haffajee et al. 2004).

Die Anzahl der Bakterien, die mit Parodontalerkrankungen in Verbindung gebracht werden, kann bei Patienten mit Parodontitis 5-10mal über der Anzahl von gesunden Patienten liegen (Lovegrove 2004). *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* werden in signifikant höherer Anzahl bei Patienten mit Parodontitis vorgefunden (Ximénez-Fyvie et al. 2000a, Ximénez-Fyvie et al. 2000b). *A. actinomycetemcomitans* ist häufiger in tiefen Taschen nachweisbar, die bei Sondierung bluten können (Mombelli et al. 1994). *P. gingivalis* und *T. denticola* werden häufig in tiefen parodontalen Taschen und bei erhöhtem Attachmentverlust angetroffen (Takeuchi et al. 2001). Eine Entzündung des parodontalen Gewebes begünstigt die Vermehrung der Keime des "roten Komplexes". In der parodontalen Tasche haften die Keime an Epithelzellen an und werden mit Nährstoffen versorgt (Holt et al. 1999, Fives-Taylor et al. 2000). Diese günstigeren Bedingungen für die parodontopathogenen Spezies führen zu einer Vermehrung der Keime und sind für eine höhere Anzahl der Mikroorganismen bei Parodontalerkrankungen mitverantwortlich (Ximénez-Fyvie et al. 2000a).

#### **6.4 Wirksamkeit der adjuvanten Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin gegenüber den vier parodontopathogenen Keimen**

Einzig die adjuvante Applikation von Moxifloxacin führte zu einer signifikanten und langfristigen Verringerung von *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* nach 3, 6 und 12 Monaten im Vergleich zur Basisuntersuchung. Das Fluorchinolon war gut wirksam gegenüber den Erregern *P. gingivalis* und *T. forsythia*. Das Antibiotikum erzielte zu allen drei Nachkontrollen signifikante Reduktionen von *P. gingivalis* und *T. forsythia* im Vergleich zur Basisuntersuchung.

Die Wirksamkeit eines Antibiotikums gegenüber einem Erreger hängt von mehreren Faktoren ab. Eine wichtige Rolle spielen die Pharmakokinetik einer Substanz und die damit verbundene Antibiotikakonzentration am Wirkort. Ausschlaggebend für die Wirksamkeit sind außerdem die Empfindlichkeit des Erregers gegenüber der Substanz und das eventuelle Vorhandensein von Resistenzen (Rotzetter und Cimasoni 1993, Forth et al. 2001).

Die gute Wirksamkeit von Moxifloxacin könnte vor allem auf die günstigen pharmakokinetischen Eigenschaften zurückgeführt werden (Müller et al. 1999, Sakellari et al. 2000). Mit einer Bioverfügbarkeit von 86% wird Moxifloxacin fast vollständig absorbiert (Stass und Kubitz 1999). Moxifloxacin scheint nach oraler Aufnahme in höheren Mengen in den Speichel als in das Plasma abgegeben zu werden (Müller et al. 2002). Im gesunden und erkrankten Zustand sind *A. actinomycetemcomitans* und andere fakultative Anaerobier ausgedehnt intraoral verteilt (Müller et al. 1997, Quirynen et al. 2001). Daher ist ein wichtiges Auswahlkriterium für ein Antibiotikum neben der erreichbaren Konzentration in der Sulkusflüssigkeit auch die erreichbare Konzentration im Speichel nach therapeutischer Dosierung. Moxifloxacin kann zudem effizienter als Doxycyclin die Struktur des Biofilms zerstören und die Zellform von *A. actinomycetemcomitans* beschädigen (Eick et al. 2004a). Vorteilhaft von Moxifloxacin ist auch, dass sich der Wirkstoff direkt an der Stelle der Infektion im Gewebe anreichern kann, indem er polymorphkernige Granulozyten und Epithelzellen penetriert (Pascual et al. 1999). Auf diese Weise können auch intrazellulär angereicherte Bakterien mit Moxifloxacin abgetötet werden. Pfister et al. (2001) bestätigten in einer *in-vitro*-Studie eine gute Wirksamkeit von Moxifloxacin gegenüber *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis*. Eine Studie von Eick et al. (1998) gibt die minimale Hemmkonzentration (MHK) von Ciprofloxacin gegenüber *A. actinomycetemcomitans* mit 0,25 µg/ml an.

Die bessere Wirksamkeit von Moxifloxacin auf *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* gegenüber Doxycyclin kann auch darauf zurückzuführen sein, dass die Erreger empfindlicher gegenüber diesem Antibiotikum sind und seltener Resistenzen gegen diese Substanz aufweisen. Das Wirkungsspektrum von Moxifloxacin umfasst gramnegative und grampositive Anaerobier (Woodcock et al. 1997) und ähnelt damit dem Wirkungsspektrum von Doxycyclin. Es ist auch denkbar, dass Moxifloxacin durch seine bakterizide Wirkung Keime effizienter abtöten kann, als das bakteriostatisch wirksame Doxycyclin.

Eine *in-vitro* Resistenzentwicklung durch Veränderung der Zielenzyme und den Mechanismus des aktiven Efflux bei *P. gingivalis* wurde bei der Anwendung von Fluorchinolonen beschrieben (Ikeda und Yoshimura 2002, Eick et al. 2004b). Aber es ist anzunehmen, dass Resistenzen innerhalb des neuen Anwendungsbereiches in der Parodontologie seltener anzutreffen sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Moxifloxacin zu einer besseren und langfristigeren Reduktion von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* und *T. denticola* führte als die anderen beiden Therapieansätze. Die gute Wirksamkeit von Moxifloxacin gegenüber *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* kann durch eine hohe Konzentration am Wirkort und eine gute Empfindlichkeit - oder selteneres Vorliegen von Resistenzen - erklärt werden.

### **6.5 Wirksamkeit der adjuvanten Antibiotikatherapie mit Doxycyclin gegenüber den vier parodontopathogenen Keimen**

Doxycyclin war gut wirksam gegenüber den Erregern *P. gingivalis* und *T. forsythia*. Das Antibiotikum bewirkte eine signifikante Reduktion von *P. gingivalis* und *T. forsythia* zu allen drei Nachkontrollen im Vergleich zur Basisuntersuchung.

Die adjuvante Antibiotikatherapie mit Doxycyclin führte erfolgreich zur Abnahme der beiden Bakterien. Demzufolge erreichte das Antibiotikum eine ausreichend hohe minimale Hemmkonzentration für diese Erreger in der Sulkusflüssigkeit, um *P. gingivalis* und *T. forsythia* effizient zu eliminieren. Aufgrund der guten Wirksamkeit von Doxycyclin kann davon ausgegangen werden, dass die Stämme von *P. gingivalis* und *T. forsythia* in den Patientenproben gegenüber dem Wirkstoff in dieser Studie kaum resistent waren.

Andere Studien beschrieben keine resistenten Stämme von *P. gingivalis* und *T. forsythia* vor und nach lokaler und systemischer Tetracyclintherapie (Goodson und Tanner 1992, Listgarten et al. 1993, Feres et al. 1999b, Walker et al. 2000). Van Winkelhoff et al. (2000) stellten geografische Unterschiede in der Häufigkeit Tetracyclin-resistenter Keime fest.

In der vorliegenden Arbeit kam es unter Doxycyclintherapie in Kombination mit Scaling und Root Planing-Behandlung initial zu einer signifikanten Abnahme von *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung. Die signifikante Abnahme von *T. denticola* nach Doxycyclingabe und instrumenteller Therapie war allerdings nach der ersten Nachkontrolle nicht mehr nachweisbar. Doxycyclin hatte keinen langzeitigen Effekt auf diesen Erreger. Die systemische adjuvante Gabe von Doxycyclin zeigte ebenso keinen signifikant reduzierenden Effekt auf *A. actinomycetemcomitans*.

Anfang der 50er Jahre eingeführt, waren Tetracycline für zwei Jahrzehnte die am häufigsten eingesetzten Antibiotika in der Parodontalbehandlung (Van Winkelhoff et al. 1996, Walker und Karpinia 2002). Eine Zunahme von Resistenzen bei parodontopathogenen Spezies gegenüber Tetracyclinen wurde in diversen Studien berichtet (Mombelli et al. 1996, Walker 1996). Ein Vorliegen von Resistenzen könnte eine Ursache für die fehlende Wirksamkeit von Doxycyclin gegenüber *T. denticola* und *A. actinomycetemcomitans* sein. Die erworbene Resistenz wird durch Plasmide vermittelt. Die Resistenzplasmide können ein Transportsystem induzieren, das aktiv und selektiv Tetracyclinmoleküle aus der Bakterienzelle herausspumpt sowie Porinproteine und die passive Diffusion reduziert. Studien zufolge werden bei 30% der Erreger Resistenzen gegenüber Tetracyclinen beobachtet (Walker 1996). Eine Zunahme von Resistenzen vor und nach systemischer oder lokaler Tetracyclinbehandlung wurde dokumentiert (Fiehn und Westergaard 1990, Larsen 1991, Goodson und Tanner 1992, Feres et al. 1999b, Feres et al. 2002, Diaz-Torres et al. 2005). So konnten Rodriguez et al. (2004) bereits vor Studienbeginn eine prozentuale Resistenz von 8-15% bei isolierten Keimen gegenüber 4 µg/ml Tetracyclin beobachten. Von anderen Autoren wurde eine gesteigerte Resistenzentwicklung bei *A. actinomycetemcomitans* gegenüber Tetracyclin festgestellt (Roe et al. 1995, Rodriguez et al. 2004). Auch in der vorliegenden Arbeit hatte Doxycyclin keinen Effekt auf *A. actinomycetemcomitans* und nur einen initial reduzierenden Effekt auf *T. denticola* ausgeübt, was darauf hindeutet, dass Doxycyclin-resistente Keime während der Antibiotikabehandlung entstanden sein könnten. Diese Annahme müsste durch eine Bestimmung der Resistenz der Erreger gegenüber Doxycyclin vor und nach Behandlung abgeklärt werden.

Einige Studien stellten fest, dass Doxycyclin nur in unzureichenden Konzentrationen in den Speichel abgegeben wurde und daher möglicherweise nicht ausreichend auf einige Erreger wirken konnte (Sakellari et al. 2000, Müller et al. 2002). Die fehlende Wirksamkeit von Doxycyclin auf *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* könnte auch durch eine schlechtere Absorption nach oraler Verabreichung und daraus resultierende geringe Konzentration in der Sulkusflüssigkeit erklärt werden (Sakellari et al. 2000).

Zusammenfassend fand die vorliegende Arbeit eine gute Wirksamkeit von Doxycyclin gegenüber *P. gingivalis* und *T. forsythia*, die durch eine ausreichend hohe minimale Hemmkonzentration in der Sulkusflüssigkeit erklärt werden könnte. Eine Empfindlichkeit der beiden Erreger - bei seltenem Vorliegen von Resistenzen - war

ebenfalls von Bedeutung für die Wirksamkeit von Doxycyclin. Doxycyclin führte aber nicht zu einer signifikanten Abnahme von *A. actinomycetemcomitans* oder dauerhaften Reduktion von *T. denticola*.

## 6.6 Wirksamkeit der alleinigen instrumentellen Therapie

Die alleinige instrumentelle Therapie führte in den ersten drei Monaten zu einer signifikanten Reduktion von *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung. Eine signifikante Abnahme von *A. actinomycetemcomitans* war nach zwölf Monaten im Vergleich zur Basisuntersuchung nachweisbar, wobei hier ein inzidenteller Befund nicht ausgeschlossen werden kann. Zu allen anderen Nachkontrollen waren keine signifikanten Verringerungen von *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* im Vergleich zur Basisuntersuchung zu verzeichnen. Die alleinige instrumentelle Therapie bewirkte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Reduktion von *P. gingivalis* und *T. forsythia*.

Durch Deep Scaling und Root Planing wurden weiche und harte Ablagerungen auf der Zahnoberfläche entfernt. Der Biofilm wurde zerstört. Dies kann eine nachfolgende Veränderung der parodontalen Mikroorganismen zur Folge haben (Ximénez-Fyvie et al. 2000c). Bei diesem Vorgehen werden Bakterien entfernt und in der Mundhöhle verstreut. Dabei können Erreger von subgingivalen Regionen in vormals unbesiedelte intraorale Räume, wie z.B. Zunge, Tonsillen, Speichel, Pharynx wandern (Beikler et al. 2004). Während der instrumentellen Parodontalbehandlung kann es zu einer Aktivierung der Immunantwort des Wirts durch Bakteriämie kommen (Sjöström et al. 1994). Diese gesteigerte Immunantwort könnte eine zusätzliche klinische Verbesserung bewirken (Pawlowski et al. 2004). Eine kurzzeitige Abnahme von *T. denticola* nach instrumenteller Therapie wurde auch von anderen Autoren beschrieben (Simonson et al. 1992, Shiloah und Patters 1994, Lowenguth und Greenstein 1995). Cugini et al. (2000) stellten eine Abnahme des Vorkommens und der Menge von *T. forsythia*, *P. gingivalis* und *T. denticola* nach Scaling und Root Planing fest. Jedoch ist die alleinige Therapie aus Deep Scaling und Root Planing in ihrer Wirksamkeit eingeschränkt. Tiefe Taschen und Bifurkationen können nur unzureichend therapiert werden. Auch Mikroorganismen im umgebenden Gewebe der parodontalen Tasche werden nicht erreicht (Cugini et al. 2000). Dies könnte die Ursache dafür sein, dass *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* durch alleinige instrumentelle Therapie nicht dauerhaft signifikant reduziert wurden.



## 6.7 Vergleich der Wirksamkeit der Parodontalbehandlung zwischen Nichtrauchern und Rauchern

In der Auswertung wurde die Wirksamkeit der Behandlungen der schweren chronischen Parodontitis zwischen Nichtraucher und Raucher verglichen. Es zeigte sich, dass Raucher zu allen Zeitpunkten eine Tendenz zu höheren Keimzahlen von *A. actinomycetemcomitans* aufwiesen. Allerdings waren bei der Gesamtverteilung von *A. actinomycetemcomitans* keine signifikanten Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern vorhanden. Für *P. gingivalis* und *T. forsythia* lagen zu keinem Zeitpunkt der Therapie signifikante Unterschiede zwischen Nichtrauchern und Rauchern vor. Einzig *T. denticola* trat bei Nichtrauchern zur zweiten Nachkontrolle im Vergleich zu Rauchern signifikant vermindert auf.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen mit anderen Befunden in der Literatur im Wesentlichen überein, die gezeigt haben, dass die alleinige instrumentelle Therapie - ohne oder in Kombination mit adjuvanter antibakterieller Behandlung - einen geringeren Heilungseffekt bei Rauchern als bei Nichtrauchern hat (Preber und Bergstrom 1986, Ah et al. 1994, Preber et al. 1995, Grossi et al. 1996, Kaldahl et al. 1996, Grossi et al. 1997, Kinane und Radvar 1997, Boström et al. 1998, Machtei et al. 1998, Renvert et al. 1998, Tonetti 1998, Haffajee und Socransky 2001). Eine geringere Reduktion von *P. gingivalis* und *T. forsythia* bei Rauchern mit chronischer Parodontitis wurde von Grossi et al. (1997) berichtet. Eine Studie von Van der Velden et al. (2003) zeigte auch eine geringere Reduktion parodontopathogener Bakterien bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern nach Parodontalbehandlung. Rauchen scheint die Wahrscheinlichkeit zu steigern, dass bei Patienten nach Therapie die Erreger *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* nachweisbar bleiben (Haffajee et al. 1997, Van Winkelhoff et al. 2001). Dieses Ergebnis könnte auf einen systemischen Effekt des Rauchens auf die Immunantwort des Wirts zurückzuführen sein (Andersen et al. 1982, Holt 1987, Graswinckel et al. 2004). Allerdings muss auch in Betracht gezogen werden, dass die Unterschiede bei der Prävalenz der Spezies zwischen Rauchern und Nichtrauchern vor der Therapie eine Rolle spielen könnten. Diese Unterschiede könnten zu einer verminderten Reduktion der Keime bei Rauchern führen (Haffajee und Socransky 2001).

## 6.8 Schlussfolgerung für die antibiotische Therapie

Zusammenfassend kann - bei der Therapie der schweren chronischen Parodontitis - das Behandlungskonzept instrumentelle Therapie mit adjuvanter Antibiose als erfolgreicher angesehen werden als die alleinige instrumentelle Behandlung. Im Vergleich zum Ausgangsbefund konnte durch Einsatz der Antibiotika eine stärkere Reduktion parodontopathogener Mikroorganismen erzielt werden. Somit ist der Einsatz von Antibiotika bei schwerer Parodontitis indiziert (Page 2004, Jorgensen und Ting 2005). Der Vergleich beider Antibiotikagruppen zeigte, dass Moxifloxacin im Vergleich zu Doxycyclin eine bessere und langfristige antimikrobielle Wirkung gegen *A. actinomycetemcomitans* und *T. denticola* hatte. Nach den mikrobiologischen Ergebnissen zufolge war das Fluorchinolon Moxifloxacin Doxycyclin überlegen. Allerdings kann die Wirkung von Doxycyclin auf *P. gingivalis* und *T. forsythia* auch als erfolgreich gelten. Unter Berücksichtigung des vorliegenden Erregerspektrums, des Nebenwirkungsprofils und der Kosten für die Therapie kann eine rationale Auswahl für ein Antibiotikum getroffen werden (Jorgensen und Slots 2002). Bei Nachweis von *A. actinomycetemcomitans* wäre Moxifloxacin eine gute Wahl. Aber auch Ciprofloxacin und Amoxicilin mit Metronidazol wären bei *A. actinomycetemcomitans*-assoziierten Parodontitiden Therapiemöglichkeiten (Walker und Karpinia 2002, Jorgensen und Ting 2005). Je nach Einzelfall sollte überprüft werden, ob die Therapie mit Moxifloxacin indiziert ist. So wäre speziell bei Parodontitiden mit erhöhtem Vorkommen von *P. gingivalis* und *T. forsythia* zwischen Moxifloxacin- und Doxycyclingabe abzuwägen. Zurzeit ist die adjuvante Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin in der Parodontologie bisher noch nicht zugelassen. Nach der Einnahme von Moxifloxacin und Doxycyclin können unterschiedliche Nebenwirkungen bei Patienten auftreten. Diese Nebenwirkungen sollten im Vorfeld der Therapie gegeneinander abgewogen werden, wobei weitere Grunderkrankungen des Patienten berücksichtigt werden sollten.

Eine Entscheidung zwischen lokaler oder systemischer Antibiotikagabe wäre nach der Lokalisation der Parodontitis und dem Erregerspektrum zu treffen. Bei Vorkommen weniger tiefer Taschen wäre eine lokale Antibiotikatherapie in Betracht zu ziehen. Eine lokal angewandte adjuvante, antimikrobielle Therapie mit Doxycyclin (Atridox<sup>TM</sup>) ist ein effektives Mittel, um den Behandlungserfolg von Scaling und Root Planing zusätzlich zu steigern (Mombelli et al. 2002b, Salvi et al. 2002). Moxifloxacin wird zurzeit noch nicht zur lokalen Applikation angeboten.

In der vorliegenden Arbeit zeigte Moxifloxacin (Avalox®) gegen die vier parodontopathogenen Leitkeime (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) eine gute Wirksamkeit, die der Therapie mit Doxycyclin teilweise überlegen war. Moxifloxacin sollte daher in weiteren klinischen Studien in Bezug auf eine Indikationserweiterung für die Parodontitistherapie geprüft werden. Eine adjuvante systemische Antibiotikatherapie mit Moxifloxacin könnte künftig bei der Behandlung der schweren chronischen Parodontitis eine wichtige Rolle spielen.

## 7 Literaturverzeichnis

Adriaens P, De Boever J, Loesche W. 1988. Bacterial invasion root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol*, 59:222-230.

Ah M, Johnson G, Kaldahl W, Patil K, Kalkwarf K. 1994. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, 21:91-97.

Akalin F, Baltacioglu E, Sengun D, Hekimoglu S, Taskin M, Etikan I, Fisenk I. 2004. A comparative evaluation of the clinical effect systemic and local doxycycline in the treatment of chronic periodontitis. *J Oral Sci*, 46:25-35.

Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Hrsg. 2005. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Neunte Aufl. München, Jena: Urban und Fischer, 826, 837.

Al-Nawas B. 2002. Einsatz von Antibiotika in der zahnärztlichen Praxis. *Dtsch Zahnärztl Z*, 57:1-11.

Albandar J, Streckfus C, Adesanya M, Winn D. 2000. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol*, 71:1874-1881.

Ali R, Lie T, Skaug N. 1992. Early effects of periodontal therapy on the detection frequency of four putative periodontal pathogens in adults. *J Periodontol*, 63:540-547.

Ali W, Vecescu C, Jivanesu M, Lofthus B, Skaug N. 1996. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 23:133-139.

Andersen P, Perdersen O, Bach B, Bonde G. 1982. Serum antibodies and immunoglobulins in smokers and non-smokers. *Clin Exp Immunol*, 47:467-473.

Andersson M, MacGowan A. 2003. Development of the quinolones. *J Antimicrob Chemother*, 51 Suppl 1:1-11.

Armitage G. 1999. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, 4:1-6.

Asai Y, Jinno T, Igarashi H, Ohyama Y, Ogawa T. 2002. Detection and quantification of oral treponemes in subgingival plaque by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 40:3334-3340.

Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. 1996. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 11:266-273.

Balfour J, Wiseman L. 1999. Moxifloxacin. *Drugs*, 57:363-373.

Baquero F. 2001. Low-level antibacterial resistance: a gateway to clinical resistance. *Drug Resist Updat*, 4:93-105.

- Barbour S, Nakashima K, Zhang J, Tangada S, Hahn C, Schenkein H, Tew J. 1997. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med*, 8:437-460.
- Bascones-Martínez A, Figuero-Ruiz E. 2004. Periodontal diseases as bacterial infection. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 9:101-107.
- Beck J, Koch G, Rozier R, Tudor G. 1990. Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. *J Periodontol*, 61:521-528.
- Beikler T, Abdeen G, Schnitzer S, Sälzer S, Ehmke B, Heinecke A, Flemming T. 2004. Microbiological shifts in intra- and extraoral habitats following mechanical periodontal therapy. *J Clin Periodontol*, 31:777-783.
- Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. 1998. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*, 25:354-362.
- Biedenbach D, Barrett M, Croco M, Jones R. 1998. BAY 12-8039, a novel fluoroquinolone: activity against important respiratory pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 32:45-50.
- Birkedal-Hansen H. 1993. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*, 28:500-510.
- Blondeau J. 1999. Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clin Ther*, 21:3-40.
- Blondeau J, Hansen G. 2001. Moxifloxacin: a review of the microbiological, pharmacological, clinical and safety features. *Expert Opin Pharmacother*, 2:317-335.
- Bodet C, Chandad F, Grenier D. 2005. Inflammatory responses of a macrophage/epithelial cell co-culture model to mono and mixed infections with *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*. *Microbes Infect*, 8:27-35.
- Boström L, Linder L, Bergström J. 1998. Influence of smoking on the outcome of periodontal surgery. A 5-year follow up. *J Clin Periodontol*, 25:194-201.
- Boswell F, Andrews J, Wise R. 1997. Pharmacodynamic properties of BAY 12-8039 on gram-positive and gram-negative organisms as demonstrated by studies of time-kill kinetics and post-antibiotic effect. *Antimicrob Agents Chemother*, 41:1377-1379.
- Bouclin R, Landry R, Noreau G. 1997. The effects of smoking on periodontal structures: a literature review. *J Can Dent Assoc*, 63:360-363.
- Boutaga K, Van Winkelhoff A, Vandenbroucke-Grauls C, Savelkoul P. 2003. Comparison of real-time PCR and culture for detection of *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. *J Clin Microbiol*, 41:4950-4954.
- Brayton J, Yang Q, Nakkula R, Walters J. 2002. An in vitro model of ciprofloxacin and minocycline transport by oral epithelial cells. *J Periodont Res*, 28:1276-1272.

- Buff S, Al-Nawas B, Hohlfelder M, Schulze R, Grötz K, Maeurer M, Wagner W. 2001. Anaerobier bei submukösen und Logenabszessen - therapierelevante mikrobiologische Unterschiede. Dtsch Zahnärztl Z, 56:170-175.
- Cachovan G, Ahlers M, Platzer U, Mack D, Sobottka I. 2003. Antimikrobielle Empfindlichkeit parodontalpathogener und anderer Keime gegenüber Moxifloxacin und anderen Antibiotika. Dtsch Zahnärztl Z, 58:298-301.
- Caton J, Ciancio S, Blieden T, Bradshaw M, Crout R, Hefti A, Massaro J, Polson A, Thomas J, Walker C. 2001. Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects. J Clin Periodontol, 28:782-789.
- Chang Y, Yang S, Lai C, Liu J, Hsieh Y. 2002. Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. J Periodontal Res, 37:196-203.
- Charles C, Mostler K, Bartels L, Mankodi S. 2004. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. J Clin Periodontol, 31:878-884.
- Chaves E, Jeffcoat M, Ryerson C, Snyder B. 2000. Persistent bacterial colonization of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months therapy. J Clin Periodontol, 27:897-903.
- Child J. 1996. Risks and prevention of infective endocarditis. Cardiol Clin, 14:327-343.
- Christersson L, Emrich L, Dunford R, Genco R. 1986. Analysis of data from clinical studies of localized juvenile periodontitis. J Clin Periodontol, 13:476-487.
- Ciancio S. 2002. Systemic medications: clinical significance in periodontics. J Clin Periodontol, 29 Suppl 2:17-21.
- Conway T, Beck F, Walters J. 2000. Gingival fluid ciprofloxacin levels at healthy and inflamed human periodontal sites. J Periodontol, 71:1448-1452.
- Corsair A. 1994. Long-term effect of tetracycline fibers on recurrent lesions in periodontal maintenance patients. Periodontal Clin Investig, 16:8-13.
- Crockett A, Wittwer C. 2001. Fluorescein-labeled oligonucleotides for real-time PCR: using the inherent quenching of deoxyguanosine nucleotides. Analyt Biochem, 290:89-97.
- Cugini M, Haffajee A, Smith C, Kent R, Socransky S. 2000. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. J Clin Periodontol, 27:30-36.
- Dajani A, Taubert K, Wilson W, Bolger A, Bayer A, Ferrieri P, Gewitz M, Shulman S, Nouri S, Newburger J, Hutto C, Pallasch T, Gage T, Levison M, Peter G, Zuccaro G. 1997. Prevention of bacterial endocarditis. J Am Dent Assoc, 128:1142-1151.

- Dalhoff A. 1999. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother*, 43:51-59.
- Dalhoff A, Petersen U, Endermann R. 1997. In vitro activity of BAY 12-8039, a new 8-methoxyquinolone. *Chemother*, 42:410-425.
- Dawson M, Powell R, Gannon F. 1996. *Gene Technology*. Oxford: BIOS Scientific Publishers.
- Diaz-Torres M, McNab R, Spratt D, Villedieu A, Hunt N, Wilson M, Mullany P. 2005. Novel tetracycline resistance determinant from the oral metagenome. *Antimicrob Agents Chemother*, 47:1430-1432.
- Dierickx K, Pauwels M, Laine M, Van Eldere J, Cassiman J, Van Winkelhoff A, Van Steenberghe D, Quirynen M. 2003. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* serotypes to pocket epithelium. *J Periodontol*, 74:844-848.
- Dong Y, Xu C, Zhao X, Domagala J, Drlica K. 1998. Fluoroquinolone action against mycobacteria: effects of C-8 substituents on growth, survival, and resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:2978-2984.
- Dorn B, Burks J, Seifert K, Progulske-Fox A. 2000. Invasion of endothelial and epithelial cells by strains of *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res*, 79:1808-1814.
- Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh T, Douglas C. 2001. Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* at adult periodontitis sites. *J Clin Periodontol*, 28:437-445.
- Ebersole J, Taubman M, Smith D, Frey D. 1986. Human immune responses to oral microorganisms: patterns of systemic antibody levels to *Bacteroides* species. *Infect Immun*, 51:507-513.
- Eick S, Pfister W. 2002a. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival samples. *J Clin Periodontol*, 29:638-644.
- Eick S, Pfister W, Baumgart T, Klinger G, Straube E. 1998. Untersuchung zur In-vitro-Resistenz parodontopathogener Bakterien gegenüber sechs Antibiotika. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53:407-411.
- Eick S, Pfister W, Straube E. 1999. Antimicrobial susceptibility of anaerobic and capnophilic bacteria isolated from odontogenic abscesses and rapidly progressive periodontitis. *Int J Antimicrob Agents*, 12:41-46.
- Eick S, Rödel J, Einax J, Pfister W. 2002b. Interaction of *Porphyromonas gingivalis* with KB cells: comparison of different clinical isolates. *Oral Microbiol Immunol*, 17:201-208.
- Eick S, Selmann T, Pfister W. 2004a. Efficacy of antibiotics to strains of periodontopathogenic bacteria within a single species biofilm - an in vitro study. *J Clin Periodontol*, 31:376-383.

- Eick S, Schmitt A, Sachse S, Schmidt K, Pfister W. 2004b. In vitro antibacterial activity of fluoroquinolones against *Porphyromonas gingivalis* strains. *J Antimicrob Chemother*, 54:553-556.
- Emingil G, Atila G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylas H. 2004. The effect of adjunctive low-dose-doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*, 75:106-115.
- Erdemir E, Duran I, Haliloglu S. 2004. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 31:99-104.
- Feres M, Haffajee A, Allard K, Som S, Goodson J, Socransky S. 2002. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. *J Clin Periodontol*, 29:725-735.
- Feres M, Haffajee A, Allard K, Som S, Socransky S. 2001. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol*, 28:597-609.
- Feres M, Haffajee A, Goncalves C, Allard K, Som S, Smith C, Goodson J, Socransky S. 1999a. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (I). Effect on the subgingival microbiotics. *J Clin Periodontol*, 26:775-783.
- Feres M, Haffajee A, Goncalves C, Allard K, Som S, Smith C, Goodson J, Socransky S. 1999b. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (II). Effect on antibiotic resistance of subgingival species. *J Clin Periodontol*, 26:784-792.
- Fessler A. 1983. Effectiveness of drug treatment in periodontal diseases. *Dtsch Zahnärztl Z*, 38:829-835.
- Fiehn N, Westergaard J. 1990. Doxycycline-resistant bacteria in periodontally diseased individuals after systemic doxycycline therapy and in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol*, 5:219-222.
- Fine D. (1994). Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. A report of 3 cases. *J Clin Periodontol*, 21:98-106.
- Fives-Taylor P, Meyer D, Mitz K, Brissette C. 2000. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol 2000*, 20:136-167.
- Flemmig T. 1999. Periodontitis. *Ann Periodontol*, 4:32-38.
- Flemmig T, Karch H. 1997. Mikrobiologische Diagnostik marginaler Parodontitiden. *Bayerisches Zahnärzteblatt*, 11:22-25.
- Flemmig T, Milian E, Karch H, Klaiber B. 1998a. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol*, 25:380-387.



- Flemmig T, Milian E, Kopp C, Karch H, Klaiber B. 1998b. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. *J Clin Periodontol*, 25:1-10.
- Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K, Hrsg. 2001. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Achte Aufl. München, Jena: Urban und Fischer, 791-798.
- Gabler W, Creamer H. 1991. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontal Res*, 26:52-58.
- Gängler P, Hoffmann T, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M, Hrsg. (2005). Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. Zweite Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 285-290.
- García L, Tercero J, Legido B, Ramos J, Alemany J, Sanz M. 1998. Rapid detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* by multiplex PCR. *J Periodontal Res*, 33:59-64.
- Genco R, Allenspach-Petrzilka G, Guggenheim B. 1992. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol*, 63:338-355.
- Gibbs R. 1990. DNA amplification by the polymerase chain reaction. *Analyt Chem*, 62:1202-1214.
- Gill M, Brenwald N, Wise R. 1999. Identification of an efflux pump gene, *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Chemother*, 43:2032-2035.
- Golub L, Lee H, Greenwald R, Ryan M, Sorsa T, Salo T, Giannobile W. 1997. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res* 46:310-319.
- Golub L, McNamara T, Ryan M, Kohut B, Blieden T, Payonk G, Sipos T, Baron H. 2001. Adjunctive treatment with subantimicrobial doses of doxycycline: effects on gingival fluid collagenase activity and attachment loss in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*, 28:146-156.
- Golub L, Ramamurthy N, McNamara T, Greenwald R, Rifkin B. 1991. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: new therapeutic implications for an old family drug. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2:297-321.
- Goodson J, Tanner A. 1992. Antibiotic resistance of the subgingival microbiota following local tetracycline therapy. *Oral Microbiol Immunol*, 7:113-117.
- Gordon J, Walker C. 1993. Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. *J Periodontol*, 64:760-761.
- Gordon J, Walker C, Murphy J, Goodson J, Socransky S. 1981. Tetracycline: levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect on subgingival organisms. Part I. Concentrations in crevicular fluid after repeated doses. *J Periodontol*, 52:609-612.

- Graswinckel J, Van der Velden U, Van Winkelhoff A, Hoek F, Loos B. 2004. Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. *J Clin Periodontol*, 31:562-568.
- Greenstein G. (1988). Microbiologic assessments to enhance periodontal diagnosis. *J Periodontol*, 59:508-515.
- Grossi S, Skrepcinski F, DeCaro T, Zambon J, Cummins D, Genco R. 1996. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol* 67:1094-1102.
- Grossi S, Zambon J, Ho A, Koch G, Dunford R, Machtei E, Norderyd O, Genco R. 1994. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*, 65:260-267.
- Grossi S, Zambon J, Machtei E, Schifferle R, Andreana S, Genco R. 1997. Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc*, 128:599-607.
- Haber J. 1994. Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis. *Compendium*, 15:1002, 1004-1008 passim; quiz 1014.
- Haffajee A, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez N, Socransky S. 2004. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol*, 31:996-1002.
- Haffajee A, Cugini M, Dibart S, Smith C, Kent R, Socransky S. 1997. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 24:324-334.
- Haffajee A, Cugini M, Tanner A, Pollack R, Smith C, Kent R, Socransky S. 1998. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol*, 25:346-353.
- Haffajee A, Socransky S. 1994. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000, 5:78-111.
- Haffajee A, Socransky S. 2001. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*, 28:377-388.
- Haraszthy V, Hariharan G, Tinoco E, Cortelli J, Lally E, Davis E, Zambon J. 2000. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J Periodontol*, 71:912-922.
- Heisig P. 1996. Genetic evidence for a role of *parC* mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 40:879-885.
- Henderson B, Wilson M, Sharp L, Ward J. 2002. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Med Microbiol*, 51:1013-1020.
- Hoffler U, Niederau W, Pulverer G. 1980. Susceptibility of *Bacterium actinomycetemcomitans* to 45 antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*, 17:943-946.

- Holt P. 1987. Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax*, 42:241-249.
- Hooper D. 2001. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*, 7:337-341.
- Horstkotte D. 1999. Zahnärztliche Eingriffe und Endokarditisprophylaxe. *Dtsch Zahnärztl Z*, 54:596-597.
- Hughes D, Haslam P, Townend P, Turner-Warwick M. 1985. Numerical and functional alterations in circulatory lymphocytes in cigarette smokers. *Clin Exp Immunol*, 61:459-466.
- Hung H, Douglass C. 2002. Meta-analysis of the effect of scaling and root-planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *J Clin Periodontol*, 29:975-986.
- Ikeda T, Yoshimura F. 2002. A resistance-nodulation-cell division family xenobiotic efflux pump in an obligate anaerobe, *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemother*, 46:3257-3260.
- Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Otso L, Lauhio A, Saari H, Kontinen Y, Golub L. 1993. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival cervicular fluid in different periodontal diseases: a review article. *J Periodontol*, 64:82-88.
- James J, Sayers N, Drucker D, Hull P. 1999. Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol*, 70:518-525.
- Janoir C, Zeller V, Kitzis M, Moreau N, Gutmann L. 1996. High-level fluoroquinolone resistance *Streptococcus pneumoniae* requires mutations in *parC* and *gyrA*. *Antimicrob Agents Chemother*, 40:2760-2764.
- Jepsen S, Koltzsch M, Jepsen K, Jervoe-Storm P. 2004. 4062 Short-term microbiological effects of subgingival debridement monitored by Real-Time PCR. Hawaii Convention Center: IADR/AADR/CADR 82nd General Session.
- Jervoe-Storm P, Koltzsch M, Falk W, Jepsen S. 2004. 4061 Comparison of culture and real-time PCR for detection periopathogens. Hawaii Convention Center: IADR/AADR/CADR 82nd General Session.
- Johnson J, Houchens D, Kluwe W, Craig D, Fisher G. 1990. Effects of mainstream and environmental tobacco smoke on the immune system in animals and humans. A review. *Crit Rev Toxicol*, 20:369-395.
- Jorgensen M, Safarian A, Daneshmand N, Keim R, Slots J. 2004. Initial antimicrobial effect of controlled-release doxycycline in subgingival sites. *J Periodontal Res*, 39:315-319.
- Jorgensen M, Slots J. 2002. The ins and outs of periodontal antimicrobial therapy. *J Calif Dent Assoc*, 30:297-305.
- Jorgensen M, Ting M. 2005. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontol 2000*, 28:106-176.

- Jousimies-Somer H, Asikainen S, Suomala P, Summanen P. 1988. Activity of metronidazole and its hydroxy metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol*, 3:32-34.
- Kaatz G, Seo S. 1997. Mechanisms of fluoroquinolone resistance in genetically related strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 41:2733-2737.
- Kaldahl W, Johnson G, Patil K, Kalkwarf K. 1996. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol*, 67:675-681.
- Kaplan J, Meyenhofer M, Fine D. 2003. Biofilm growth and detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Bacteriol*, 184:1399-1404.
- Karow T, Lang R, Hrsg. 1997. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Siebte Aufl. Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm: Gustav Fischer Verlag, 838-841.
- Kerdvongbundit V, Wikesjö U. 2000. Effect of smoking on periodontal health in molar teeth. *J Periodontol*, 71:433-437.
- Kern A, Kanhai W, Fröhde R, Karl W. 1996. BAY 12-8039, a new 8-methoxy-quinolone: metabolism in rat, monkey and man. New Orleans, Los Angeles: In program and abstracts of the thirty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.
- Ketterl W, Hrsg. 1990. *Parodontologie*. Zweite Aufl. München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 123-131.
- Kinane D, Chestnutt I. 2000. Smoking and periodontal disease. *Rev Oral Biol Med*, 11:356-365.
- Kinane D, Radvar M. 1997. The effect of smoking on the mechanical and antimicrobial periodontal therapy. *J Periodontol*, 68:467-472.
- Kleinfelder J, Müller R. 1998. Antibiotische Empfindlichkeit parodontalpathogener Mikroorganismen. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53:602-607.
- Klugman K, Capper T. 1997. Concentration-dependent killing of antibiotic resistant pneumococci by the methoxyquinolone moxifloxacin. *J Antimicrob Chemother*, 40:797-802.
- Kolenbrander P, Ganeshkumar N, Cassels F, Hughes C. 1993. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J*, 7:406-413.
- Krasemann C, Meyer J, Tillotson G. 2001. Evaluation of the clinical microbiology profile of moxifloxacin. *Clin Infect Dis*, 32:51-63.
- Lally E, Hill R, Kieba I, Korostoff J. 1999. The interaction between RTX toxins and target cells. *Trends Microbiol*, 7:356-361.
- Lamont R, Jenkinson H. 1998. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62:1244-1263.

- Lamster I, Celenti R, Jans H, Fine J, Grbic J. 1993. Current status of tests for periodontal disease. *Adv Dent Res*, 7:182-190.
- Lange D, Plagmann H, Eenboom A, Promesberger A. 1977. Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. *Dtsch Zahnärztl Z*, 32:1-18.
- Larsen T. 1991. Occurrence of doxycycline resistant bacteria in the oral cavity after local administration of doxycycline in patients with periodontal disease. *Scand J Infect Dis*, 23:89-95.
- Lear J, Karakelian D, Furblur E, Lally E, Tanaka J. 2000. Conformational studies of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin: partial denaturation enhances toxicity. *Biochem Biophys Acta*, 1476:350-362.
- Lemmer B, Brune K, Hrsg. 2004. *Pharmakotherapie*. Zwölfte Aufl. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 141.
- Lindhe J, Liljenberg B. 1984. Treatment of localized juvenile periodontitis. Results after 5 years. *J Clin Periodontol*, 11:399-410.
- Lépine G, Ellen R, Progulske-Fox A. 1996. Construction and preliminary characterization of three hemagglutinin mutants of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immunol*, 64:1467-1472.
- Listgarten M, Lai C. 1999. Comparative microbiological characteristics of failing implants in periodontally diseased teeth. *J Periodontol*, 70:437.
- Listgarten M, Lai C, Young V. 1993. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *J Periodontol*, 64:155-161.
- Listgarten M, Lindhe J, Hellden L. 1978. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological, and histological observations. *J Clin Periodontol*, 5:246-271.
- Listgarten M, Wong M, Lai C. 1995. Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* in an *A. actinomycetemcomitans*-positive patient population. *J Periodontol*, 63:1102-1109.
- Loesche W. 1986. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. *Oral Microbiol Immunol*, 1:65-70.
- Loesche W. 1994. Periodontal disease as a risk factor for heart disease. *Compendium*, 15:978-982.
- Lovegrove J. 2004. Dental plaque revisited: bacteria associated with periodontal disease. *J N Z Soc Periodontol*, 87:7-21.
- Lowenguth R, Greenstein G. 1995. Clinical and microbiological response to nonsurgical mechanical periodontal therapy. *Periodontol 2000*, 9:14-22.

- Lyons S, Griffen A, Leys E. 2000. Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* from saliva by PCR by using a simple sample-processing method. *J Clin Periodontol*, 38:2362-2365.
- Machtei E, Hausmann E, Schmidt M. 1998. Radiographic and clinical responses to periodontal therapy. *J Periodontol*, 69:590-595.
- Maeda H, Fujimoto C, Haruki Y, Maeda T, Kokeguchi S, Petelin M, Arai H, Tanimoto I, Nishimura F, Takashiba S. 2003. Quantitative real-time PCR using TaqMan and SYBR Green for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *tetQ* gene and total bacteria. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 39:81-86.
- Marchal N, Bourdon J, Richard C. 1991. Les milieux de culture. Paris: Doin.
- Marsh P. 2003. Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub- and supragingival environment. *Oral Dis*, 9:16-22.
- Marsh P. 2004. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res*, 38:204-211.
- Marsh P, Bowden G. 2000. Microbial community interactions in biofilms. Society for Microbiology Symposium 59. Cambridge: Cambridge University Press, 167-198.
- Milazzo I, Blandino G, Musumeci R, Nicoletti A, Lo Bue M, Speciale A. 2002. Antibacterial activity of moxifloxacin against periodontal anaerobic pathogens involved in systemic infections. *Int J Antimicrob Agents*, 20:451-456.
- Mitchell C, Ling G, Demuth D. 2003. Positive and negative cis-acting regulatory sequences control expression of leukotoxin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 652. *Infect Immun*, 71:5640-5649.
- Mombelli A. 1998. Antibiotika in der Parodontaltherapie. Der Einsatz im Rahmen eines Behandlungskonzepts. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53:684-689.
- Mombelli A. 2003. Periodontitis as an infectious disease: specific features and their implications. *Oral Dis*, 9:1-10.
- Mombelli A, Casagni F, Madianos P. 2002a. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol*, 29 Suppl 3:10-21; discussion 37-8.
- Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang N. 1994. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol*, 65:820-826.
- Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang N. 2000. Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol*, 71:14-21.
- Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang N. 2002b. Local antibiotic therapy guided by microbiological diagnoses. *J Clin Periodontol*, 29:743-749.

- Mombelli A, Tonetti M, Lehmann B, Lang N. 1996. Topographic distribution of black-pigmenting anaerobes before and after periodontal treatment by local delivery of tetracycline. *J Clin Periodontol*, 23:906-913.
- Moncla B, Braham P, Dix K, Watanabe S, Schwartz D. 1990. Use of synthetic oligonucleotide DNA probes for the identification of *Bacteroides gingivalis*. *J Clin Microbiol*, 28:324-327.
- Moore W, Moore L, Ranney R, Smibert R, Burmeister J, Schenkein H. 1991. The microbiota of periodontal sites showing active destructive progression. *J Clin Periodontol*, 18:729-739.
- Morillo J, Lau L, Sanz M, Herrera D, Silva A. 2003. Quantitative real-time PCR based on single copy gene sequence for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res*, 38:518-524.
- Mülhardt C. 2002. *Der Experimentator: Molekularbiologie/Genomics*. Dritte Aufl. Heidelberg, Berlin, New York: Spektrum Akademischer Verlag, 73-84.
- Müller H, Heinecke A. 1998. Klinische Effekte der Initialbehandlung bei Erwachsenen mit *A. actinomycetemcomitans*-assoziiierter Parodontitis. *Dtsch Zahnärztl Z*, 53:584-589.
- Müller H, Heinecke A, Borneff M, Knopf A, Kieneke C, Pohl S. 1997. Microbial ecology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* and *Capnocytophaga* spp. in adult periodontitis. *J Periodontal Res*, 32:530-542.
- Müller H, Holderrieth S, Burkhardt U, Höffler U. 2002. In vitro antimicrobial susceptibility of oral strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to seven antibiotics. *J Clin Periodontol*, 29:736-742.
- Müller M, Staß H, Brunner M, Möller J, Lackner E, Eichler H. 1999. Penetration of moxifloxacin into peripheral compartments in humans. *Antimicrob Agents Chemother*, 43:2345-2349.
- Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 51:263-273.
- Murakami Y, Higuchi N, Nakamura H, Yoshimura F, Oppenheim F. 2002. *Bacteroides forsythus* hemagglutinin is inhibited by N-acetylneuraminyllactose. *Oral Microbiol Immunol*, 17:125-128.
- Murray P, Burstein D, Winkler J. 1989. Antibodies to *B. gingivalis* in patients with treated and untreated periodontal disease. *J Periodontol*, 60:96-103.
- Naber K, Adam D unter Mitwirkung einer Expertengruppe der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e V. 1998. Einteilung der Fluorchinolone. *Münch med Wschr*, 140:248-250.
- Neumaier M, Braun A, Wagener S for the International Federation of Clinical Chemistry Scientific Division Committee on Molecular and Biology Techniques. 1998. Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics. *Clin Chem*, 44:12-26.

- Nguyen K, DeCarlo A, Paramaesvaran M, Collyer C, Langley D, Hunter N. 2004. Humoral responses to *Porphyromonas gingivalis* gingipain adhesin domains in subjects with chronic periodontitis. *Infect Immun*, 72:1374-1382.
- Nieminen A, Asikainen S, Torkko H, Karri K, Uitto V, Saxen L. 1996. Value of some laboratory and clinical measurements in the treatment plan for advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, 23:572-581.
- Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. 2005. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol*, 76:1542-1549.
- Obeid P, Bercy P. 2000. Effects of smoking on periodontal health: a review. *Adv Ther*, 17:230-237.
- Offenbacher S. 1996. Periodontal disease: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1:821-878.
- Ohta K, Makinen K, Loesche W. 1986. Purification and characterization of an enzyme produced by *Treponema denticola* capable of hydrolyzing synthetic trypsin substrates. *Infect Immun*, 53:213-220.
- Page R. 2004. The microbiological case for adjunctive therapy for periodontitis. *J Int Acad Periodontol*, 6:143-149.
- Page R, Kornmann K. 1997. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 14:9-11.
- Palmer R, Wilson R, Hasan A, Scott D. 2005. Mechanisms of action of environmental factors - tobacco smoking. *J Clin Periodontol*, 32:180-195.
- Pascale D, Gordon J, Lamster I, Mann P, Seiger M, Arndt W. 1986. Concentration of doxycycline in human gingival fluid. *J Periodontol*, 13:841-844.
- Pascual A, García I, Ballesta S, Perera E. 1999. Uptake and intracellular activity of moxifloxacin in human neutrophils and tissue-cultured epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother*, 43:12-15.
- Pavicic M, Van Winkelhoff A, de Graaff J. 1991. Synergistic effects between amoxicillin, metronidazole, and the hydroxymetabolite of metronidazole against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 35:961-966.
- Pawlowski A, Chen A, Hacker B, Mancl L, Page R, Roberts F. 2004. Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. *J Clin Periodontol*, 32:21-28.
- Pedrazzoli V, Kilian M, Karring T, Kirkegaard E. 1991. Effect of surgical and non-surgical periodontal treatment on periodontal status and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*, 18:598-604.
- Pfister W, Eick S, Assefa S. 2001. Aktivität von Chinolonen gegenüber oralen anaeroben und kapnophilen Bakterien. *Dtsch Zahnärztl Z*, 56:189-192.



- Picolos D, Lerche-Sehm J, Abron A, Fine J, Papapanou P. 2005. Infection patterns in chronic and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32:1055-1061.
- Potempa J, Banbula A, Travis J. 2000. Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses. *Periodontol 2000*, 24:153-192.
- Poulet P, Duffaut J, Lodter J. 1999. Metronidazole susceptibility testing of anaerobic bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 26:261-263.
- Preber H, Bergstrom J. 1986. Effect of non-surgical treatment on gingival bleeding in smokers and non-smokers. *Acta Odontol Scand*, 44:85-89.
- Preber H, Linder L, Bergstrom J. 1995. Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*, 22:946-952.
- Preshaw P, Hefti A, Novak M, Michalowicz B, Pihlstrom B, Schoor R, Trummel C, Dean J, Van Dyke T, Walker C, Bradshaw M. 2004. Subantimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: a multicenter trial. *J Periodontol*, 75:1068-1076.
- Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, Van Steenberghe D. 2001. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of literature. *J Clin Periodontol*, 28:499-507.
- Rams T, Listgarten M, Slots J. 1996. Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *J Clin Periodontol*, 23:346-354.
- Ratka-Krüger P, Schacher B, Burklin T, Boddingtonhaus B, Holle R, Renggli H, Eickholz P, Kim T. 2005. Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-masked, randomized, controlled multicenter study. II. Microbiological results. *J Periodontol*, 76:66-74.
- Renvert S, Dahlén G, Wikström M. 1998. The clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal therapy in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*, 25:153-157.
- Rifkin B, Vernillo A, Golub L. 1993. Blocking periodontal disease progression by inhibiting tissue-destructive enzymes: a potential therapeutic role for tetracyclines and their chemically-modified analogs. *J Periodontol*, 64:819-827.
- Riggio M, Macfarlane T, Mackenzie D, Lennon A, Smith A, Kinane D. 1996. Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. *J Periodontal Res*, 31:496-501.
- Riviere G, Smith K, Carranza N, Tzagaroulaki E, Kay S, Dock M, Zhu X, DeRouen T. 1996. Associations between *Porphyromonas gingivalis* and oral treponemes in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*, 11:150-155.
- Roberts M. 2002. Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. *Periodontol 2000*, 28:280-297.

- Rodriguez R, Goncalves C, Souto R, Feres-Filho E, Uzeda M, Colombo A. 2004. Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following systemic or local tetracycline therapy. *J Clin Periodontol*, 31:420-427.
- Roe D, Braham P, Weinberg A, Roberts M. 1995. Characterization of tetracycline resistance in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol*, 10:227-232.
- Rosling B. 1983. Periodontally treated dentitions: their maintenance and prognosis. *Int Dent J*, 33:147-151.
- Rotzetter P, Cimasoni G. 1993. The passage of antibiotics into human gingival fluid. A review of literature. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 103:401-408.
- Rudney J, Chen R, Pan Y. 2003. Endpoint quantitative PCR assays for *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res*, 38:465-470.
- Sakamoto M, Takeuchi Y, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. 2000. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. *Microbiol Immunol*, 45:39-44.
- Sakellari D, Goodson J, Kolokotronis A, Konstantinidis A. 2000. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva. *J Clin Periodontol*, 27:53-60.
- Salvi G, Mombelli A, Mayfield L, Rutar A, Suvan J, Garrett S, Lang N. 2002. Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment. *J Clin Periodontol*, 29:540-550.
- Saravolatz L, Leggett J. 2003. Gatifloxacin, gemifloxacin, and moxifloxacin: the role of 3 newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 37:1210-1215.
- Savitt E, Strzempko M, Vaccaro K, Peros W, French C. 1998. Comparison of cultural methods and DNA probe analyses for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides intermedius* in subgingival plaque samples. *J Periodontol*, 59:431-438.
- Sbordone L, Ramaglia L, Gulletta E, Iacono V. 1990. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J Periodontol*, 61:579-584.
- Sela M. 2001. Role of *Treponema denticola* in periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*, 12:399-413.
- Seymour R, Heasman P. 1995. Tetracyclines in the management of periodontal diseases. A review. *J Clin Periodontol*, 22:22-35.
- Shiloah J, Patters M. 1994. DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following scaling, root planing, and intra-pocket irrigation. *J Periodontol*, 65:568-575.
- Silness J, L  e H. 1964. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*, 2:121-135.

Simonson L, Robinson P, Pranger R, Cohen M, Morton H. 1992. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. *J Periodontol*, 63:270-273.

Singer M, Berg P. 1992. *Gene und Genome*. Erste Aufl. Heidelberg, Berlin, New York: Spektrum Akademischer Verlag, 408-409.

Sjöström K, Ou J, Whitney C, Johnson B, Darveau R, Engel D, Page R. 1994. Effect of treatment on titer, function, and antigen recognition of serum antibodies to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients with rapidly progressive periodontitis. *Infect Immun*, 62:145-151.

Slots J, Bragd L, Wikstrom M, Dahlen G. 1986. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol*, 13:570-577.

Slots J, Jorgensen M. 2002. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we yet? *Periodontol*, 28:298-312.

Slots J, Rams T. 1990. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol*, 17:479-493.

Socransky S, Haffajee A. 1992. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 63:322-331.

Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent R. 1998. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25:134-144.

Stass H, Kubitzka D. 1999. Pharmacokinetics and elimination of moxifloxacin after oral and intravenous administration in man. *J Antimicrob Chemother*, 43:83-90.

Stass H, Kubitzka D. 2001. Profile of moxifloxacin drug interactions. *Clin Infect Dis*, 32:47-50.

Stelzel M, Conrads G, Pankuveit S, Maisch B, Vogt S, Moosdorf R, Flores-de-Jacoby L. 2003. Detection of *Porphyromonas gingivalis* DNA in aortic tissue by PCR. *J Periodontol*, 73:868-870.

Stoller N, Johnson L, Trapnell S, Harrold C, Garrett S. 1998. The pharmacokinetic profile of a biodegradable controlled-release delivery system containing doxycycline compared to systemically delivered doxycycline on gingival crevicular fluid, saliva, and serum. *J Periodontol*, 69:1085-1091.

Sundqvist G. 1993. Pathogenicity and virulence of black-pigmented gram-negative anaerobes. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 6:125-137.

Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. 2001. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola*, and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 72:1354-1363.

- Talan D. 2001. Clinical perspectives on new antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 32:64-71.
- Tanner A, Maiden M, Macuch P, Murray L, Kent R. 1998a. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J Clin Periodontol*, 25:85-98.
- Tanner A, Maiden M, Zambon J, Thoren G, Kent R. 1998b. Rapid chair-side DNA probe assay of *Bacteroides forsythus* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res*, 33:105-117.
- Terranova V, Franzetti L, Hic S, DiFlorio R, Lyall R, Wikesjo U, Baker P, Christersson L, Genco R. 1986. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodontal Res*, 21:330-337.
- Tichopad A, Dzidic A, Pfaffl M. 2002. Improving quantitative real-time RT-PCR reproducibility by boosting primer-linked amplification efficiency. *Biotechnology Letters*, 24:2053-2056.
- Tokuda M, Karunakaran T, Duncan M, Hamada N, Kuramitsu H. 1998. Role of Arg-gingipain A in virulence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 66:1159-1163.
- Tonetti M. 1998. Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Ann Periodontol*, 3:88-101.
- Tran S, Rudney J. 1996. Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol*, 34:2674-2678.
- Tran S, Rudney J, Sparks B, Hodges J. 2001. Persistent presence of *Bacteroides forsythus* as a risk factor for attachment loss in a population with low prevalence and severity of adult periodontitis. *J Periodontol*, 72:1-10.
- Trombelli L, Bottega S, Orlandini E, Scapoli C, Tosi M, Tatakis D. 2003. Response to a plaque control regimen on different levels of gingival inflammation. *Minerva Stomatol*, 52:75-79.
- Uitto V, Haapasalo M, Laakso T, Salo T. 1988. Degradation of basement membrane collagen by proteases from some anaerobic oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*, 3:97-102.
- Van der Velden, U, Varoufaki A, Hutter J, Xu L, Timmerman M, Van Winkelhoff A, Loos B. 2003. Effect of smoking and periodontal treatment on the subgingival microflora. A retrospective study. *J Clin Periodontol*, 30:603-610.
- Van Winkelhoff A, Bosch-Tijhof C, Winkel E, Van der Reijden W. 2001. Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. *J Periodontol*, 72:666-671.
- Van Winkelhoff A, Herrera Gonzales D, Winkel E, Dellemijn-Kippuw N, Vandenbroucke-Grauls C, Sanz M. 2000. Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol*, 26:79-86.

- Van Winkelhoff A, Loos B, Van der Reijden W, Van der Velden U. 2002. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol*, 29:1023-1028.
- Van Winkelhoff A, Rams T, Slots J. 1996. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol* 2000, 10:45-78.
- Van Winkelhoff A, Rodenburg J, Goene R, Abbas F, Winkel E, de Graaff J. 1989. Metronidazole plus amoxycillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol*, 16:128-131.
- Walker C. 1996. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol* 2000, 10:79-88.
- Walker C, Godowski K, Borden L, Lennon J, Nango S, Stone C, Garrett S. 2000. The effects of sustained release doxycycline on the anaerobic flora and antibiotic-resistant patterns in subgingival plaque and saliva. *J Periodontol*, 71:768-774.
- Walker C, Karpinia K. 2002. Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol*, 73:1188-1196.
- Walker C, Karpinia K, Baehni P. 2004. Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials. *Periodontol* 2000, 36:146-165.
- Walter C, Zahlten J, Schmeck B, Schaudinn C, Hippenstiel S, Frisch E, Hocke A, Pischon N, Kuramitsu H, Bernimoulin J, Suttorp M, Krüll M. 2004. *Porphyromonas gingivalis* strain dependent activation of human endothelial cells. *Infect Immun*, 72:5910-5918.
- Winkel E, Van Winkelhoff A, Timmerman M, Vangsted T, Van der Velden U. 1997. Effects of metronidazole in patients with "refractory" periodontitis associated with *Bacteroides forsythus*. *J Clin Periodontol*, 24:573-579.
- Wolff L, Aepli D, Pihlstrom B, Anderson L, Stoltenberg J, Osborn J, Hardie N, Shelburne C, Fischer G. 1993. Natural distribution of 5 bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 20:699-706.
- Woodcock J, Andrews J, Boswell F, Brenwald N, Wise R. 1997. In vitro activity of BAY 12-8039, a new fluoroquinolone. *Antimicrob Agents Chemother*, 41:101-106.
- Ximénez-Fyvie L, Haffajee A, Socransky S. 2000a. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*, 27:648-657.
- Ximénez-Fyvie L, Haffajee A, Socransky S. 2000b. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol*, 27:722-732.
- Ximénez-Fyvie L, Haffajee A, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky S. 2000c. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*, 27:637-647.

Yang H, Huang Y, Chan Y, Chou M. 2005. Relationship of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes to periodontal condition: prevalence and proportions in subgingival plaque. *Eur J Oral Sci*, 113:28-33.

Yoshida A, Kawada M, Suzuki N, Nakano Y, Oho T, Saito T, Yamashita Y. 2004. TaqMan real-time polymerase chain reaction assay for the correlation of *Treponema denticola* numbers with the severity of periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*, 19:196-200.

Zambon J. 1985. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 12:1-20.

Zambon J. 1996. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol*, 1:879-925.

Zambon J, Bochacki V, Genco R. 1986. Immunological assays for putative periodontal pathogens. *Oral Microbiol Periodontol*, 1:39-47.

## 8 Anhang

Tabelle 5: Häufigkeitsverteilung (%) der vier Leitkeime zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung (t1) vor der Parodontalbehandlung

Keimanzahl	Entnahmezeitpunkte			
	<i>A. actinomyce- temcomitans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>T. denticola</i>
neg./ $< 10^3$	60,7	20,0	20,0	23,7
$10^3$	17,8	5,2	4,4	10,4
$10^4$	14,9	11,8	11,1	23,0
$10^5$	5,9	14,8	43,0	32,6
$10^6$	0,0	32,6	17,8	8,1
$\geq 10^7$	0,7	15,6	3,7	2,2
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 6: Häufigkeitsverteilung (%) von *A. actinomycetemcomitans* bei den mit Moxifloxacin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
	Basis- untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	54,2	71,2	77,8	96,3
$10^3$	18,7	16,9	17,8	3,7
$10^4$	16,9	8,5	4,4	0,0
$10^5$	8,5	3,4	0,0	0,0
$10^6$	0,0	0,0	0,0	0,0
$\geq 10^7$	1,7	0,0	0,0	0,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung (%) von *P. gingivalis* bei den mit Moxifloxacin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
	Basis- untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	22,0	64,4	55,6	63,0
$10^3$	5,1	10,1	15,6	7,4
$10^4$	8,5	6,8	2,2	11,1
$10^5$	13,6	11,9	13,3	11,1
$10^6$	30,5	6,8	13,3	3,7
$\geq 10^7$	20,3	0,0	0,0	3,7
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. forsythia* bei den mit Moxifloxacin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimzahl von <i>T. forsythia</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	25,4	64,4	53,3	48,2
$10^3$	5,1	18,6	13,3	14,8
$10^4$	10,2	8,5	11,1	14,8
$10^5$	37,3	6,8	6,7	7,4
$10^6$	20,3	0,0	6,7	3,7
$\geq 10^7$	1,7	1,7	8,9	11,1
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 9: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. denticola* bei den mit Moxifloxacin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimzahl von <i>T. denticola</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	16,9	54,2	51,1	48,1
$10^3$	11,9	20,3	8,9	11,2
$10^4$	20,3	13,6	11,1	11,1
$10^5$	37,3	5,1	15,6	22,2
$10^6$	11,9	3,4	11,1	7,4
$\geq 10^7$	1,7	3,4	2,2	0,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung (%) von *A. actinomycetemcomitans* bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimzahl von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	60,4	56,0	54,2	75,8
$10^3$	20,8	14,0	10,4	8,1
$10^4$	14,6	14,0	10,4	3,0
$10^5$	4,2	8,0	14,6	3,0
$10^6$	0,0	0,0	0,0	1,0
$\geq 10^7$	0,0	8,0	10,4	9,1
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0



Tabelle 11: Häufigkeitsverteilung (%) von *P. gingivalis* bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>P. gingivalis</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	10,4	54,0	39,6	63,6
$10^3$	2,0	18,0	18,8	9,1
$10^4$	12,5	0,0	4,2	6,1
$10^5$	18,8	20,0	14,5	6,1
$10^6$	43,8	6,0	14,6	12,1
$\geq 10^7$	12,5	2,0	8,3	3,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 12: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. forsythia* bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. forsythia</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	12,5	48,0	52,1	33,3
$10^3$	4,2	20,0	14,4	18,2
$10^4$	8,3	10,0	18,8	30,3
$10^5$	47,9	12,0	6,3	6,1
$10^6$	18,8	6,0	6,3	9,1
$\geq 10^7$	8,3	4,0	2,1	3,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 13: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. denticola* bei den mit Doxycyclin behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. denticola</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	29,2	70,0	56,3	54,5
$10^3$	12,5	8,0	4,2	6,1
$10^4$	29,2	14,0	16,7	9,1
$10^5$	18,8	4,0	12,5	15,2
$10^6$	6,3	2,0	8,3	12,1
$\geq 10^7$	4,0	2,0	2,0	3,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 14: Häufigkeitsverteilung (%) von *A. actinomycetemcomitans* bei den mit Deep Scaling und Root Planing behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	75,0	71,4	71,4	95,5
$10^3$	10,7	7,2	14,4	4,5
$10^4$	10,7	7,1	7,1	0,0
$10^5$	3,6	3,6	0,0	0,0
$10^6$	0,0	7,1	0,0	0,0
$\geq 10^7$	0,0	3,6	7,1	0,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 15: Häufigkeitsverteilung (%) von *P. gingivalis* bei den mit Deep Scaling und Root Planing behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>P. gingivalis</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	32,1	53,6	39,3	63,6
$10^3$	10,7	3,6	3,6	0,0
$10^4$	17,9	10,7	10,7	9,2
$10^5$	10,7	14,3	25,0	13,6
$10^6$	17,9	10,7	10,7	0,0
$\geq 10^7$	10,7	7,1	10,7	13,6
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 16: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. forsythia* bei den mit Deep Scaling und Root Planing behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. forsythia</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	21,4	39,3	28,6	18,2
$10^3$	3,6	17,9	10,7	18,2
$10^4$	17,9	7,1	10,7	45,5
$10^5$	46,4	21,4	25,0	4,5
$10^6$	10,7	10,7	10,7	4,5
$\geq 10^7$	0,0	3,6	14,3	9,1
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 17: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. denticola* bei den mit Deep Scaling und Root Planing behandelten Patienten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. denticola</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	28,6	53,6	32,1	59,2
$10^3$	3,5	17,8	14,4	4,5
$10^4$	17,9	21,4	32,1	22,7
$10^5$	46,4	3,6	14,3	9,1
$10^6$	3,6	3,6	7,1	4,5
$\geq 10^7$	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 18: Häufigkeitsverteilung (%) von *A. actinomycetemcomitans* bei Nichtrauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	58,8	65,1	70,1	90,7
$10^3$	22,4	18,1	15,6	4,7
$10^4$	15,3	9,6	9,1	2,3
$10^5$	3,5	4,8	3,9	0,0
$10^6$	0,0	0,0	0,0	0,0
$\geq 10^7$	0,0	2,4	1,3	2,3
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 19: Häufigkeitsverteilung (%) von *A. actinomycetemcomitans* bei Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	64,0	66,7	61,4	84,6
$10^3$	10,0	7,4	11,4	2,6
$10^4$	14,0	11,0	4,5	2,6
$10^5$	10,0	5,6	9,1	2,6
$10^6$	0,0	3,7	0,0	2,6
$\geq 10^7$	2,0	5,6	13,6	5,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 20: Häufigkeitsverteilung (%) von *P. gingivalis* bei Nichtrauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>P. gingivalis</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	18,8	56,6	48,1	58,1
$10^3$	4,7	14,5	10,4	4,7
$10^4$	10,6	6,0	6,5	9,3
$10^5$	13,0	10,9	15,5	13,9
$10^6$	37,6	8,4	13,0	4,7
$\geq 10^7$	15,3	3,6	6,5	9,3
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 21: Häufigkeitsverteilung (%) von *P. gingivalis* bei Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>P. gingivalis</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	22,0	61,1	40,9	69,2
$10^3$	6,0	7,4	20,5	7,7
$10^4$	14,0	3,7	2,3	7,7
$10^5$	18,0	22,2	18,2	5,1
$10^6$	24,0	5,6	13,6	7,7
$\geq 10^7$	16,0	0,0	4,5	2,6
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 22: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. forsythia* bei Nichtrauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. forsythia</i>	Basis-untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	21,2	47,0	49,4	30,2
$10^3$	4,7	26,5	13,0	14,0
$10^4$	10,6	8,4	11,6	39,5
$10^5$	42,3	10,9	11,7	7,0
$10^6$	20,0	3,6	5,2	7,0
$\geq 10^7$	1,2	3,6	9,1	2,3
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 23: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. forsythia* bei Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. forsythia</i>	Basis- untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
neg./ $< 10^3$	18,0	63,0	43,2	38,5
$10^3$	4,0	7,4	13,6	20,5
$10^4$	12,0	9,3	18,2	17,9
$10^5$	44,0	13,0	9,1	5,2
$10^6$	14,0	5,4	11,4	5,1
$\geq 10^7$	8,0	1,9	4,5	12,8
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 24: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. denticola* bei Nichtrauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. denticola</i>	Basis- untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
Neg./ $< 10^3$	17,6	65,1	45,5	41,9
$10^3$	10,6	13,3	7,8	11,6
$10^4$	23,5	10,8	16,9	18,6
$10^5$	37,7	4,8	16,8	18,6
$10^6$	8,2	3,6	11,7	7,0
$\geq 10^7$	2,4	2,4	1,3	2,3
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 25: Häufigkeitsverteilung (%) von *T. denticola* bei Rauchern zu vier Entnahmezeitpunkten

Bakterienstamm	Entnahmezeitpunkte			
Keimanzahl von <i>T. denticola</i>	Basis- untersuchung	3 Monate	6 Monate	12 Monate
Neg./ $< 10^3$	34,0	51,9	54,5	66,7
$10^3$	10,0	18,5	9,1	2,6
$10^4$	22,0	22,2	20,5	7,7
$10^5$	24,0	3,6	9,1	12,7
$10^6$	8,0	1,9	4,5	10,3
$\geq 10^7$	2,0	1,9	2,3	0,0
<b>Gesamt</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

## A Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. habil. Eberhard Straube danke ich, dass ich als Doktorandin die Einrichtungen des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena uneingeschränkt nutzen durfte.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. habil. Wolfgang Pfister und Frau PD Dr. med. habil. Sigrun Eick für die Überlassung des Themas, für die freundliche Betreuung dieser Arbeit sowie die fachliche Hilfestellung bei der Durchführung der mikrobiologischen Versuche und beim Erstellen dieses Manuskripts.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. habil. Holger Jentsch, Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie der Universität Leipzig, und Herrn Professor Dr. med. habil. Eike Glockmann, Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena, für die Durchführung der klinischen Studie, deren Proben im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden. Frau Sabine Zimmermann sowie Frau Dr. dent. Tina Seltmann und Herrn Dr. dent. Arndt Güntsch danke ich für die gute Kooperation und das Sammeln des Probenmaterials für diese Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dipl.-Chem. Dr. rer. nat. Eckhard Birch-Hirschfeld, Institut für Virologie und Antivirale Therapie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, für das Bereitstellen der Primer.

Ein besonderes Dankeschön gilt an dieser Stelle Frau Dr. med. Christiane Wegner, Frau Esther Fröhlich und Frau Dipl.-Biol. Sandra Ahrens für die zügige und kritische Durchsicht des Manuskripts.

Mein Dank gilt ferner allen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Mikrobiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena für die freundliche Unterstützung und das gute Arbeitsklima.

Meinen Eltern danke ich für den Rückhalt und die Unterstützung während des gesamten Studiums.

**B Lebenslauf**

**Name** Kerstin Wegner

**Geboren** 30. April 1978

**Geburtsort** Hildesheim

**Nationalität** deutsch

**Schule** 1984 – 1988 Grundschule Hohnsen, Hildesheim  
1988 – 1997 Gymnasium Andreanum, Hildesheim  
06/1997 Abitur

**Studium** 10/1997 – 04/2000 Studium der Zahnmedizin  
*Friedrich-Schiller-Universität Jena*  
04/2000 – 10/2001 Studium der Zahnmedizin  
*Medizinische Hochschule Hannover*  
10/2001 – 04/2004 Studium der Zahnmedizin  
*Friedrich-Schiller-Universität Jena*  
06/2004 Staatsexamen  
seit 10/2004 Promotionsstudium  
*Institut für Medizinische Mikrobiologie*  
*Friedrich-Schiller-Universität Jena*

Jena, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Kerstin Wegner

## C Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und der Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau PD Dr. med. habil. Sigrun Eick und Herr Prof. Dr. med. habil. Wolfgang Pfister,
- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
- ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe
- und ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Kerstin Wegner



